



UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTE DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2020

THÈSE POUR LE DIPLOME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Évaluation du dépistage combiné par phénotypage associé au génotypage à la recherche d'un déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase chez les patients recevant une primo prescription de fluoropyrimidine : apport du séquençage complet du gène *DPYD* par NGS.

Présentée et soutenue publiquement le 30 octobre 2020 à 18h
Au Pôle Formation
Par Côme DE METZ

JURY

Président :

Monsieur le Professeur *Nicolas PENEL*

Assesseurs :

Monsieur le Professeur *Éric LARTIGAU*

Monsieur le Professeur *Jean-Louis CAZIN*

Monsieur le Docteur *Benjamin HENNART*

Directeur de thèse :

Monsieur le Docteur *Aurélien CARNOT*

Travail du Service de l'UMB du Centre Oscar LAMBRET

Avertissement :

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Abréviations :

α -fluoro β -alaline: FBAL
5,10-méthyltétrahydrofolate : MTHF
5-fluorouracile : 5-FU
5-fluorodésoxyuridine monophosphate : 5-FdUMP
5-fluorouridine triphosphate : 5-FUTP
5-fluorodésoxyuridine triphosphate : 5-FdUTP
5-fluorodésoxyuridine : 5-FUdR
5-fluorouridine monophosphate : 5-FUMP
5-fluorouridine diphosphate : 5-FUDP
5-fluorodésoxyuridine diphosphate : 5-FdUDP
5-fluorodihydrouracile (ou 5-fluoro-5,6-dihydrouracil) : 5-FUH2 ou DHFU
5'-Deoxy-5-fluorouridine : 5'-DFUR
5'déoxy-5-fluorocytidine : 5'dFCR
5'-déoxy-5-fluorouridine : 5'dFUR
Acide désoxyribonucléique : ADN
Acide 5-fluorouréidopropionique : 5-FUPA
Acide ribonucléique : ARN
Acte de Biologie Hors Nomenclature : BHN
Adénosine triphosphate : ATP
Agence Européenne du médicament : AEM (anglais EMA)
Aire sous la courbe : ASC (anglais AUC)
Anti inflammatoire non stéroïdien : AINS
Anti dépresseur tricyclique : ATC
Alanine-Amino-Transférerase : ALAT
Anti inflammatoire non stéroïdien : AINS
Anti dépresseur tricyclique : ATC
Aspartate-Amino-Transférerase : ASAT
Autorisation de mise sur le marché : AMM
Autorisations de mise sur le marché : AMM
Cancer colo rectal : CCR
Cellules Mononuclées Sanguines Périphérique : PBMC (anglais)
Centre de BioPathologie: CBP
Centre de Lutte Contre le Cancer : CLCC
Clinical pharmacogenetics implementation consortium : CPIC
Common Terminology Criteria for Adverse Events: CTCAE
Cytochrome P450, Family 2, Subfamily C, Polypeptide 19: CYP2C19
Cytochrome P450, Family 2, Subfamily D, Polypeptide 6: CYP2D6
Désoxythymidine monophosphate : dTMP
Dénomination commune internationale : DCI
Débit de filtration glomérulaire : DFG
Désoxyuridine monophosphate: dUMP
Désoxythymidine monophosphate: dTMP
Dihydrouracile : UH2
Dihydropyrimidine déshydrogénase : DPD
Dihydropyrimidinase : DHP
Dutch Pharmacogenetics Working Group : DPWG
Fédération francophone de cancérologie digestive : FFCD

Fluoropyrimidine: FP
Food and Drug Administration: FDA
Guanosine triphosphate: GTP
Groupe francophone de cytogénomique oncologique : GFCO
Groupe de pharmacologie clinique oncologique : GPCO-UNICANCER
High performance liquid chromatography : HPLC
Haute Autorité de Santé : HAS
Institut National du Cancer : INCa
Inhibiteurs de la recapture de la sérotonine : IRS
Méthylène tétrahydrofolate réductase : MTHFR
Missions d'Enseignement, de Recherche, de Référence et d'Innovation : MERRI
Normal metabolizer: NM (synonyme, extensive metabolizer: EM)
Nudix hydrolase 15 : NUDT15
Next Generation Sequencing : NGS
National Comprehensive Cancer Network : NCCN
Orate phosphoribosyl transférase : OPRT
Organisation mondiale de la santé : OMS (anglais : WHO)
Phosphatases alcalines : PAL
Phosphoribosylpyrophosphate : PRPP
Polymorphisme nucléotidique (anglais Single Nucleotide Polymorphism) : SNP
Polymerase chain reaction : PCR
Poor metabolizer: PM
Réseau national de pharmacogénétique : RNPGx
Réseau National de Pharmacogénétique : RNPGx
Société Européenne d'Oncologie Médicale : ESMO
Société française de carcinologie cervico-faciale : SFCCF
Société française d'oto-rhino-laryngologie et de chirurgie de la face et du cou : SFORL
Société française de pharmacie clinique : SFPC
Société française de pharmacie oncologique : SFPO
Société française de pharmacologie et de thérapeutique : SFPT
Société française de sénologie et de pathologie mammaire : SFSPM
Société nationale française de gastro-entérologie : SNFGE
Thiopurine s-méthyltransferase: TPMT
Thymidylate synthetase : TYMS
Thymidine phosphorylase : TYMP
Uracilémie : U
Uridine phosphorylase : UPP
Voies aérodigestives supérieures : VADS

I Introduction 8

| | |
|--|----|
| I.1 RAPPELS SUR LES FLUOROPYRIMIDINES : | 8 |
| I.1.A Généralités sur les antimétabolites | 8 |
| I.1.B 5-fluorouracile | 10 |
| I.1.C Capécitabine | 26 |
| I.1.D Flucytosine | 35 |
| I.2. LE DEFICIT EN DPD | 36 |
| I.2.A Pharmacogénétique | 36 |
| I.2.B Toxicités graves aux fluoropyrimidines et déficit en DPD | 41 |
| I.2.C Génotypage DPYD | 50 |
| I.2.D Phénotypage DPD | 61 |
| I.2.E Épidémiologie du déficit en DPD | 70 |
| I.2.F Recommandations sur le déficit en DPD | 72 |

II MATERIEL ET METHODES 75

| | |
|---|----|
| II.1 CONTEXTE DE L'ÉTUDE : | 75 |
| II.1.A Recommandations sur le dépistage du déficit en DPD | 75 |
| II.1.B Le dépistage du déficit en DPD au CHRU de Lille | 78 |
| II.2 OBJECTIF DE L'ÉTUDE : | 81 |
| II.2.A Question scientifique : | 81 |
| II.2.B Description : | 83 |
| II.2.C Objectif principal | 83 |
| II.2.D Objectifs secondaires | 84 |
| II.3 MISE EN ŒUVRE DE L'ÉTUDE : | 85 |
| II.3.A Mise en place initiale de l'étude | 85 |
| II.3.B Méthodologie de recueil de données rétrospective | 87 |
| II.4 ANALYSES STATISTIQUES : | 89 |
| II.4.A Nombre de sujets nécessaires | 89 |
| II.4.B Détail des analyses statistiques : | 90 |

III RESULTATS 91

| | |
|---|-----|
| III.1 CARACTERISTIQUES DES PATIENTS : | 91 |
| III.1.A Digramme de flux : | 91 |
| III.1.B Données de population générale : | 92 |
| III.1.C Résultats du dépistage | 93 |
| III.1.D Résultats de diminution de dose de fluoropyrimidine et toxicités à C2 | 101 |
| III.2 CRITERE DE JUGEMENT PRINCIPAL : | 103 |
| III.2.A Analyse principale : | 103 |
| III.2.B Analyse de sous-groupes : | 105 |
| III.3 CRITERES DE JUGEMENTS SECONDAIRES : | 106 |
| III.3.A Analyse de toxicités : | 106 |
| III.3.B Analyse des pratiques cliniques : | 110 |
| III.3.C Analyse supplémentaires : | 114 |

IV DISCUSSION 117

| | |
|--|-----|
| IV.1 RESULTATS DE NOTRE ÉTUDE : | 118 |
| IV.1.A. Description de la population : | 118 |
| IV.1.B. Résultats sur le critère de jugement principal : | 126 |
| IV.1.C. Résultats sur les critères de toxicité : | 128 |
| IV.1.D. Modifications de dose et toxicités pour les patients avec variants rares | 133 |
| IV.1.E. Modalités pratiques de réalisation des tests de dépistage | 134 |
| IV.1.F. Évolution des pratiques de dépistage. | 136 |
| IV.2 LIMITES ET FORCES DE L'ÉTUDE : | 136 |

V CONCLUSION 139

I Introduction

I.1 Rappels sur les fluoropyrimidines :

I.1.A Généralités sur les antimétabolites

Parmi l'arsenal thérapeutique des traitements médicaux antinéoplasiques, les chimiothérapies classiques cytotoxiques ont tenu et tiennent toujours à ce jour un rôle primordial. Il existe plusieurs classes de chimiothérapies cytotoxiques, dont les antimétabolites, appelés ainsi de par leur action d'inhibition de la synthèse d'acide désoxyribonucléique (ADN) ou d'acide ribonucléique (ARN) via différents mécanismes.

Les anti métabolites se composent de trois sous-classes : les analogues pyrimidiques, les analogues puriques et les antagonistes des folates.

Pour rappel, on différencie les bases puriques des bases pyrimidiques en fonction du noyau aromatique constituant le squelette des noyaux azotés des acides nucléiques comme décrit dans la figure 1.

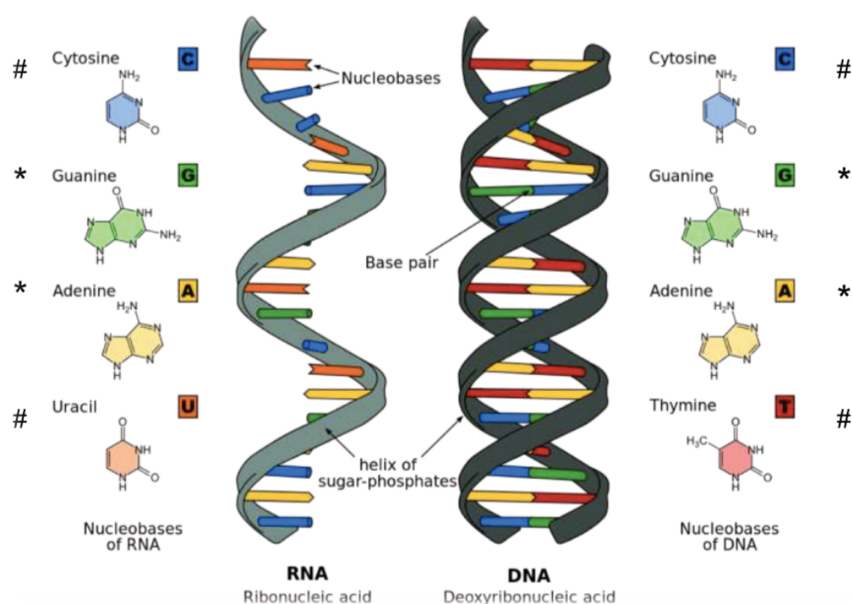


Figure 1 : Les bases nucléiques, cours intensifs de l'I.G.R. Jean-Baptiste Bachet GHPS, 14/01/2020.
: bases pyrimidiques * : bases puriques

L'action des analogues puriques et pyrimidiques consiste à interférer avec les précurseurs nucléotidiques naturels, soit en inhibant directement leur synthèse, soit en leur faisant concurrence pour la synthèse d'ADN et d'ARN.

Les antagonistes des folates inhibent l'action de l'acide folique (ou acide ptéroylmonoglutamique), qui a de nombreux effets sur le métabolisme. Il est, entre-autre, indispensable à la synthèse de la désoxyThymidine MonoPhosphate (dTMP), un des principaux désoxyribonucléotide composant l'ADN, ainsi qu'à la synthèse des bases puriques, adénine et guanine.

Le tableau ci-dessous résume les principaux anti métabolites utilisés en France, principalement en onco-hématologie mais aussi dans d'autres spécialités médicales comme en rhumatologie.

| Sous-classes | DCI (nom commercial) | 1ère AMM |
|--------------------------|--|---|
| Analogues puriques | Azathioprine (Imurel®) 6-Thioguanine (Lanvis®) Fludarabine (Fludara®) Clofarabine (Evoltra®) Cladribine (Litak®, Leustatine®) Nélarabine (Atriance®) Pentostatine (Nipent®) Thioguanine (Lanvis®) Mercaptopurine (Purinethol®, Xaluprine®) | 30/12/1997 (FR) 08/07/1999 (FR) 05/12/1994 (FR) 29/05/2006 (EMA) 05/09/1994 (FR) 22/08/2007 (EMA) 25/03/1993 (FR) 08/07/1999 (FR) 10/12/1997 (FR) |
| Analogues pyrimidiques | Fluorouracile Capécitabine (Xéloda®) Gemcitabine (Gemzar®) Cytarabine (Aracytine®) Trifluridine + tipiracil (Lonsurf®) Décitabine (Dacogen®) Azacitine (Vidaza®) | 11/10/1993 (FR) 02/02/2001 (EMA) 22/06/1996 (FR) 24/09/1987 (FR) 25/04/2016 (EMA) 20/09/2012 (EMA) 17/12/2008 (EMA) |
| Antagonistes des folates | Methotrexate Pemetrexed (Alimta®) Raltitrexed (Tomudex®) | 09/11/1981 (FR) 20/09/2004 (EMA) 23/02/1996 (FR) |

Tableau 1 : Liste des anti métabolites en fonction de leur sous-classe avec leur première date d'autorisation en France ou Européenne via l'EMA. Source : répertoire des médicaments de l'ANSM <http://agence-prd.ansm.sante.fr>

Nous nous intéressons dans ce travail plus particulièrement aux fluoropyrimidines, représentés très majoritairement par le 5-fluorouracile (5-FU) et sa prodrogue orale, la capécitabine. Nous ne présenterons pas les autres prodrogues orales du fluorouracile telles que le Tegafur associé à l'uracile (UFT®), le Carmofur ou le S-1 (Teysuno®, une association de Tegafur, Gimeracil et Oteracil) car ces 3 drogues ne sont pas ou plus utilisés en pratique clinique en France.

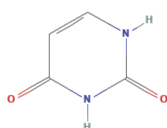
I.1.B 5-fluorouracile

a. Historique

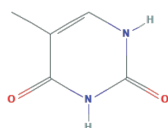
L'utilisation plus importante de l'uracile par certains tissus tumoraux en comparaison à des tissus physiologiques chez l'animal a été démontrée dès 1954 par Rutman et al. (1). L'hypothèse a donc été la suivante : la synthèse d'un analogue des pyrimidines pourrait interférer avec la synthèse d'acides nucléiques au niveau du tissu tumoral et ainsi permettre de diminuer sa prolifération. Peu de temps après, en 1957, Heidelberger et ses collègues présentaient dans la revue *Nature* une nouvelle classe d'antitumoraux, les pyrimidines fluorées ou fluoropyrimidines (2). Le fluor apparaissait comme un bon candidat associé avec l'uracile pour développer une molécule antitumorale, autant du point de vue conformationnel que de par le potentiel toxique de cet atome. Sa superposition à l'atome d'hydrogène en position 5' semblait la meilleure position pour obtenir le plus de stabilité entre l'atome de fluor et celui de carbone (2) d'où l'appellation de 5-fluorouracil. Ainsi plusieurs méthodes de synthèse du 5-fluorouracile ont été publiées dès 1957 (3) et sont encore utilisées à ce jour.

b. Structure

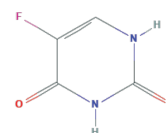
La structure chimique du 5-FU ressemble fortement à celle des pyrimidines naturelles, comme présenté sur la figure ci-dessous.



Uracile



Thymine



5-Fluorouracile

Figure 2 : structure chimique 2D des bases nucléiques pyrimidiques et de leur analogue fluoré.
Source : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

La formule moléculaire du 5-FU est la suivante : $C_4H_3FN_2O_2$

Le 5-FU est composé d'un noyau aromatique à six atomes, distinctif des bases pyrimidiques, avec quatre atomes de carbone et deux atomes d'hydrogène auxquels se rajoutent les deux fonctions cétones en position 2 et 4. La différence avec l'uracile vient du remplacement de l'hydrogène au niveau du carbone 5 par un atome de fluor. Ce dernier possède un rayon atomique assez proche de celui de l'hydrogène, ce qui permettrait de minimiser le changement de conformation moléculaire du 5-FU en comparaison à l'uracile.

c. Mécanisme d'action

Le 5-FU agit chez l'Homme comme un cytotoxique via son action antimétabolite. En effet, ce dernier est converti dans la cellule en un équivalent de désoxynucléotide, le 5-fluorodésoxyuridine monophosphate (5-FdUMP) qui forme alors un complexe covalent avec la thymidylate synthétase (TYMS). Parce que le 5-FdUMP présente plus

d'affinité avec la TYMS que son substrat naturel, le dUMP, la formation du complexe TYMS / 5-FdUMP bloque donc l'action naturelle de la TYMS, qui est de convertir la désoxyuridine monophosphate (dUMP) en désoxythymidine monophosphate (dTMP). Cette inhibition conduit alors à l'altération de la synthèse d'ADN (4).

Il existe d'autres voies d'inhibition de la synthèse d'ADN et d'ARN, cependant moins bien démontrées :

- Le 5-FU triplement phosphorylé est converti en 5-fluorouridine triphosphate (5-FUTP), qui peut s'incorporer dans les différents ARN, interférant avec ce dernier et pouvant par exemple amener à la synthèse inadéquate de protéines.
- Le 5-FU est aussi transformé en 5-fluorodésoxyuridine puis après triple phosphorylation, en 5-fluorodésoxyuridine triphosphate (5-FdUTP). Cette molécule s'insère alors dans l'ADN et entraîne sa fragmentation, pouvant amener à l'apoptose en l'absence de réparation adéquate.

Ces trois mécanismes sont décrits dans la figure ci-dessous.

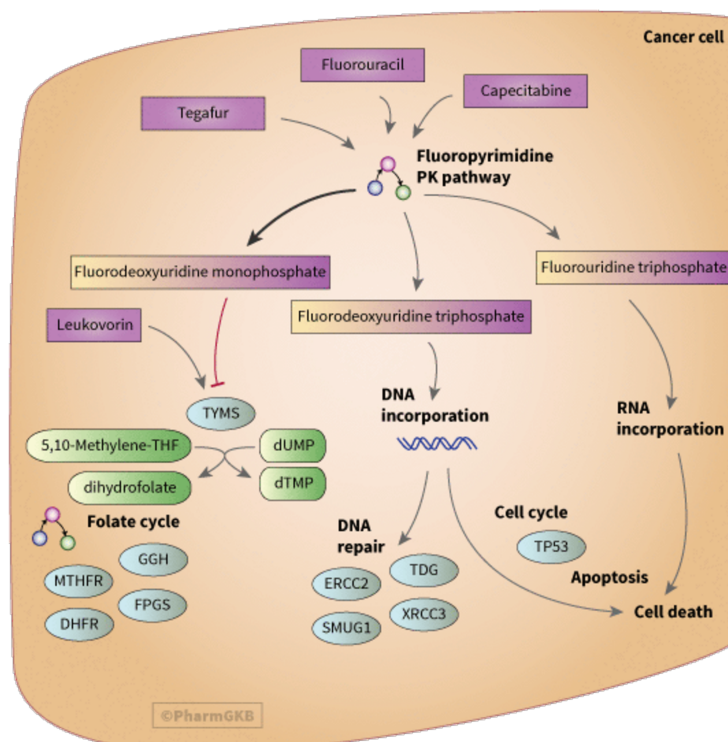


Figure 3 : Pharmacodynamie du 5FU au niveau intracellulaire. En violet le nom des molécules et leurs métabolites, en bleu les gènes des protéines ciblées, en vert les intermédiaires biologiques.
Source : <https://www.pharmgkb.org>.

De manière notable, il semblerait que les mécanismes d'actions soient différents en fonction du mode d'administration :

- Les injections de 5FU en bolus interfèrent plutôt avec l'ARN
- En revanche, le 5FU continu interfèrerait plutôt avec l'ADN (5).

Finalement le 5-FU se définit aussi comme un agent radio-sensibilisant et un immunosuppresseur.

d. Anabolisme

Après injection intraveineuse, environ 80% du 5-FU est métabolisé au niveau hépatique et la quasi-totalité du 5-FU non métabolisé est éliminée par voie urinaire (4).

Le 5-FU est transporté dans la cellule, de la même manière que l'uracile, par un système de récepteurs saturables et non dépendant de ses concentrations intra ou extra cellulaires.

Le 5-FU intracellulaire suit alors deux voies principales, la voie du catabolisme via l'enzyme dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) ou bien celle de l'anabolisme avec la production de nucléotides fluorés et les conséquences citées ci-dessus sur l'ADN et l'ARN (4). Il existe un lien direct entre l'anabolisme et le catabolisme du 5-FU, avec une préférence pour la voie du catabolisme. Il a été démontré que l'anabolisme du 5-FU était fortement dépendante du catabolisme « avide » de la DPD (6). On estime très faible la proportion de 5-FU non catabolisé, suivant donc finalement la voie de l'anabolisme (1 à 3%).

La figure ci-dessous explique les différentes voies d'anabolisme aboutissant aux effets cytotoxiques du 5-FU sus cités :

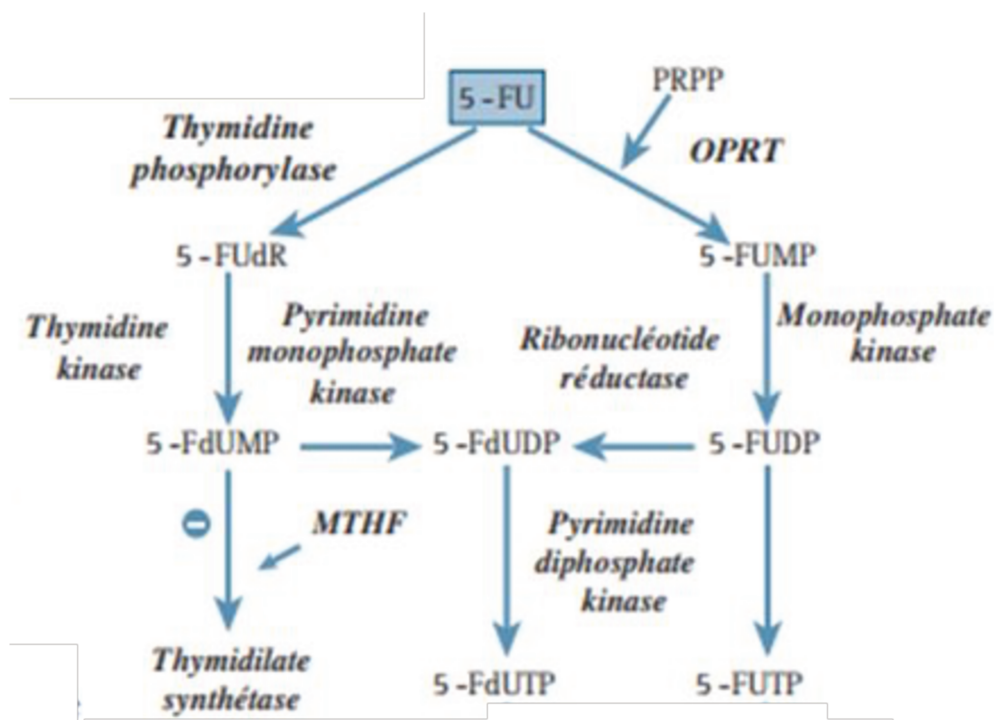


Figure 4 : anabolisme du 5-FU intracellulaire. Source : <https://www.fmcgastro.org>.

- D'une part le 5FU est métabolisé en 5-fluorodésoxyuridine (5-FUdR) par la thymidine phosphorylase puis en 5-FdUMP par la thymidine kinase. On rappelle que c'est le complexe 5-FdUMP-Thymidilate synthétase qui empêche l'action de cette dernière, aboutissant ainsi à l'inhibition de la synthèse d'ADN. Ce complexe est stabilisé par une troisième molécule, le 5,10-méthyltétrahydrofolate (MTHF).
- D'autre part, l'orate phosphoribosyl transférase (OPRT) permet la transformation du 5-FU associé au phosphoribosylpyrophosphate (PRPP) en 5-fluorouridine monophosphate (5-FUMP). Le 5-FUMP se transforme en 5-fluouridine diphosphate (5-FUDP) sous l'action de la monophosphate kinase puis en 5-FUTP sous l'action de la pyrimidine diphosphate kinase, avec les conséquences déjà citées sur l'ARN.

- Enfin, sous l'action de la pyrimidine monophosphate kinase et de la ribonucléotide réductase, le 5-FdUMP et le 5-FUDP peuvent se transformer tous deux en 5-fluorodésoxyuridine diphosphate (5-FdUDP). Cette molécule, sous l'action de la pyrimidine diphosphate kinase, se transforme en 5-FdUTP, avec les conséquences que nous venons d'évoquer sur l'ADN.

e. Association à l'acide folinique

L'acide folinique sous forme de folinate de calcium (ou leucovorine) injectable est utilisé dans un certain nombre de protocoles de chimiothérapies contenant du 5-FU.

L'injection se fait sur 120 minutes, précédant l'administration du 5-FU, seul ou en parallèle de l'injection d'oxaliplatine (ex : protocole FOLFOX 4 simplifié).

L'acide folinique est entre autres métabolisé en MTHF, permettant une stabilisation du complexe 5-FdUMP-Thymidilate synthétase et ainsi prolongeant l'inhibition de la thymidilate synthétase. Les protocoles incluant de l'acide folinique ont démontré une majoration de l'effet anti tumoral dans un certain nombre de cancers, notamment l'adénocarcinome colique (7). Certains protocoles utilisent eux l'acide L-folinique, forme lévogyre de l'acide folinique.

f. Catabolisme

D'après les études, le 5-FU serait catabolisé à plus de 80% par la DPD en 5-fluorodihydrouracile (5-FUH₂). Cette enzyme, décrite depuis les années 1960, est ubiquitaire ; son activité est toutefois la plus haute dans le tissu hépatique mais est aussi fortement présente dans les cellules mononuclées du sang. Il a été démontré que cette enzyme possédait une variabilité circadienne, au moins dans les cellules mononuclées du sang (8). Il s'agit aussi d'une enzyme saturable, dose dépendante, et

dont la variabilité inter individuelle de l'activité est très importante, allant jusqu'à un facteur 10 dans certaines études (9). Le 5-FUH₂ suit ensuite une chaîne de dégradation : il est dégradé en acide 5-fluorouréidopropionique (5-FUPA) puis en α-fluoro β-alanine (FBAL) associé à de l'urée et du CO₂ sous l'action de la dihydropyrimidinase et la β-uréidopropionase respectivement. Ainsi, une large proportion de 5-FU est excrétée par voie respiratoire sous forme de CO₂ et une proportion plus modérée dans les urines et dans la bile (10). On retrouve dans les urines des patients traités par 5-FU du FBAL, du 5-FU non métabolisé et du 5-FUPA. Il est à noter que le FBAL et ses dérivés sont à l'origine de la toxicité neurologique, cardiaque et hépatique cholestatique du 5-FU, notamment via le fluoroacétate, un poison du cycle de Krebs.

La figure ci-dessous résume le catabolisme du 5-FU.

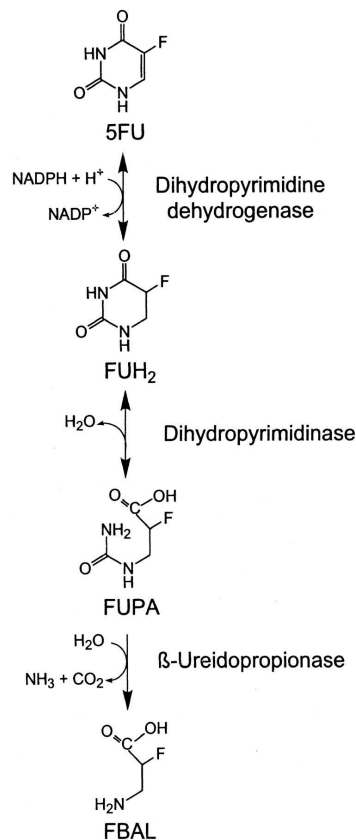


Figure 5 : catabolisme du 5-FU intracellulaire. Source : (11)

g. Pharmacocinétique

Le 5-FU a une mauvaise biodisponibilité par voie orale, avec une médiane de 28%, variant de 0 à 74% chez 12 patients testés à la dose de 10 à 15 mg/kg (12).

Le 5-FU est donc uniquement utilisé en forme soluble en injection intra veineuse avec une stabilité importante à pH physiologique, de l'ordre de plusieurs semaines. Il est injecté soit en bolus sur quelques minutes, soit en diffuseur sur plusieurs jours.

Utilisé en bolus, on observe une diffusion rapide et sélective du 5-FU dans les tissus à une croissance rapide, avec en 4 heures une concentration jusqu'à huit fois plus élevée que dans les tissus à croissance normale. Ce phénomène, couplé au mécanisme de catabolisme actif de la DPD, explique la très courte demi vie plasmatique du 5FU, de l'ordre de 6 à 16 minutes. En 3 heures le 5-FU a disparu de la circulation sanguine. Finalement, le catabolisme du 5-FU étant saturable, la clairance du 5-FU diminue en parallèle de l'augmentation des doses (10).

Utilisé en diffuseur continu sur plusieurs jours, le 5-FU a des concentrations plus faibles et difficiles à calculer, mesurées entre 0.8 et 71.0 $\mu\text{mol/L}$. Il a été mis en évidence une variabilité circadienne de la molécule chez des patients recevant du 5-FU en continu, expliqué par son catabolisme (13) (14). Les concentrations de 5-FU semblent suivre en effet une courbe inverse de l'activité de la DPD, avec un minimum de concentration de 5-FU retrouvé entre 2 et 4h et un pic d'activité DPD entre 22h et 4h retrouvé chez 6 des 7 patients étudiés dans l'article de Harris et al.

Le volume de distribution du 5-FU en bolus varie entre 14 et 54L et sa clairance plasmatique varie entre 48 et 114 L/h. En ce qui concerne le 5-FU en diffusion (ou infusion continue), nous n'avons pas retrouvé de calcul de volume de distribution, et la clairance plasmatique est beaucoup plus importante, entre 54 et 420 L/h.

La pharmacocinétique du 5FU semble influencée par plusieurs facteurs, dont le sexe (clairance 15% plus élevée chez l'homme) et l'âge (toxicités dont le syndrome mains pieds plus fréquent). Il existe finalement une importante variabilité interindividuelle des concentrations de 5FU.

h. Indications en pratique clinique

Les premières études randomisées avec le 5-FU ont été réalisées à partir de la fin des années 1980 avec de petits effectifs de patients atteints de cancer colorectal, d'abord potentialisé par du méthotrexate puis rapidement par de la leucovorine (15). On note en France une première autorisation de mise sur le marché (AMM) en 1993, et le 5-FU est aujourd'hui utilisé en France et dans le monde dans de nombreux cancers, principalement ceux du tractus digestif. Il a l'AMM en France pour :

- Les adénocarcinomes digestifs, notamment en situation localisée ou avancée (gastrique, pancréatique, œsophagien, colorectal) ou dans le carcinome colorectal en situation adjuvante.
- Les carcinomes mammaires, en situation adjuvante ou en récurrence
- Les adénocarcinomes ovariens
- Les carcinomes épidermoïdes des voies aérodigestives supérieures (VADS) en situation localement avancée ou métastatique

Le 5-FU est aussi utilisé dans le cancer du pancréas en situation adjuvante et avancée, ainsi que dans les traitements du carcinome épidermoïde de la marge anale et du cholangiocarcinome localisés ou avancés.

Il n'y a pas d'indication d'administration de 5-FU en intra musculaire.

Il existe des formes de 5-FU topiques, à utilisation locale cutanée (EFUDIX 5%®) ou même ophtalmologique. Le 5-FU est aussi utilisé en injection intra-artérielle hépatique dans des indications précises telles que le traitement des métastases hépatiques des adénocarcinomes colorectaux. Le 5-FU est également utilisé en intra-veineux dans le contexte de chimiothérapie hyperthermie intra-péritonéales (CHIP), de manière synchrone au bain de chimiothérapie intra péritonéal.

i. Contre-indications

Les contre-indications mentionnées sur la RCP du produit sont les suivantes :

- Hypersensibilité
- Patients présentant un déficit complet d'activité de la DPD
- Grossesse
- Allaitement
- Mauvais état nutritionnel
- Hypoplasie médullaire
- Infection potentiellement sévère

j. Posologies

En monothérapie, la dose du 5FU varie sur la RCP du produit de 400 à 600 mg/m²/jour, prescrit 3 à 6 jours par mois, en perfusion d'une heure (protocole de la MAYO clinic).

Le protocole LV5FU2 simplifié de la fédération francophone de cancérologie digestive (FFCD), protocole de monothérapie fréquemment utilisé en France, prévoit tous les 15 jours :

- Une dose d'acide folinique de 400 mg/m² sur 120 minutes
- Un bolus de 5-FU de 400 mg/m² en 10 minutes

- Un diffuseur de 5-FU de 2400 mg/m² sur 46 heures

Il est précisé sur la RCP du produit que la dose de 1g/m² en une seule injection ne doit pas être dépassée dans la majorité des indications.

Il est conseillé sur la RCP du produit de réaliser un ajustement de dose de 5-FU en cas de trouble grave de la fonction hépatique.

En polychimiothérapie, les doses de 5-FU varient d'un protocole à l'autre suivant son mode d'administration, en bolus ou en perfusion. Sur la RCP du produit, il est mentionné des doses variant de 300 à 600 mg/m²/jour pendant 2 à 5 jours, séparées de 3 à 4 semaines.

Le tableau ci-dessous présente à titre d'exemple les différents protocoles de chimiothérapie comprenant du 5FU utilisés en pratique clinique en France (non exhaustif).

| Protocole | Leucovorine | 5-FU bolus | 5-FU perfusion | Autres molécules (J1) |
|-------------------------------|-------------------------------------|---|---|---|
| LV5FU simplifié (J1-J15) | 400 mg/m ² (2h) | 400 mg/m ² (10 min) | 2400 mg/m ² (46h) | Aucune |
| LV5FU standard (J1 - J15) | 200 mg/m ² J1 et J2 (2h) | 400 mg/m ² J1 et J2 (10 min) | 600 mg/m ² (22h) J1 et J2 | Aucune |
| FOLFOX simplifié (J1 -J15) | 400 mg/m ² (2h) | 400 mg/m ² (10 min) | 2400 mg/m ² (46h) | Oxaliplatine 85 à 130 mg/m ² (2h) |
| FOLFIRI (J1-J15) | 400 mg/m ² (2h) | 400 mg/m ² (10 min) | 2400 mg/m ² (46h) | Irinotécan 180 mg/m ² (90 min) |
| FOLFIRINOX (J1-J15) | 400 mg/m ² (2h) | 400 mg/m ² (10 min) | 2400 mg/m ² (46h) | Oxaliplatine 85mg/m ² (2h) + irinotécan 150 à 180 mg/m ² (90 min) |
| CDDP-5FU-trastuzumab (J1-J22) | Non | Non | 800 mg/m ² / jour (120h) | Cisplatine 80mg/m ² (60 min)+ trastuzumab |
| CDDP-5FU avec radiothérapie | Non | Non | 800 à 1000 mg/m ² / jour (96h) | Cisplatine 75 à 80mg/m ² (60 min) |

| | | | | |
|---|----------------------------|--------------------------------|--|---|
| CDDP-5FU sans radiothérapie (J1 - J29) | Non | Non | 1000 mg/m ² / jour (120h) | Cisplatine 100 mg/m ² (60 min) |
| ECF (J1 - J22) | Non | Non | 200 mg/m ² / jour (21 jours) | Epirubicine 50 mg/m ² (30 min) + cisplatine 60 mg/m ² (60 min) |
| CDDP-LV5FU (J1 J15) | 400 mg/m ² (2h) | 400 mg/m ² (10 min) | 2400 mg/m ² (46h) | Cisplatine 50 mg/m ² (60 min) |
| Mitomycine-5FU avec (ou sans) radiothérapie | Non | Non | 750 à 1000 mg/m ² / jour (96h à 120h) | Mitomycine C 10 à 15 mg/m ² (bolus) |
| TPF (J1 – J21) | Non | Non | 750 mg/m ² / jour (120h) | Docétaxel 75 mg/m ² (60 min) + cisplatine 75 mg/m ² (60 min) |
| CF(E) ou PF(E) (J1 – J21) | Non | Non | 1000 mg/m ² / jour (96h) | Cisplatine 100 mg/m ² ou carboplatine AUC5 (60 min) + erbitux hebdomadaire |
| FEC 50 / FEC 100 (J1 – J21) | Non | 500 mg/m ² (20 min) | Non | Épirubicine 50 à 100 mg/m ² + cyclophosphamide 500 mg/m ² |
| 5FU continu (avec radiothérapie) | Non | Non | 225 mg/m ² / jour en continu (6 semaines) | Aucun |

Tableau 2 : principaux protocoles de chimiothérapie contenant du 5-FU utilisés en pratique clinique en France (non exhaustif).

Le 5-FU peut aussi être utilisé en administration intra hépatique sur 4 à 6 heures à une dose de 600 mg/m² toutes les semaines.

k. Toxicités

Les toxicités du 5-FU sont nombreuses autant sur le plan physique que sur le plan hématologique.

Le 5-FU a des toxicités spécifiques gastro intestinales et hématologiques bien décrites dans la littérature, avec principalement diarrhées, mucites, leucopénie et thrombopénie, lié à son mécanisme d'action sur les tissus à croissance rapide.

Sont aussi décrites dans la littérature des toxicités communément retrouvées pour d'autres molécules de chimiothérapies tels qu'asthénie, nausées, vomissements, alopecie, plus rarement toxicité oculaire et photosensibilisation.

Des toxicités cutanées telles que le syndrome mains-pieds sont décrites avec le 5-FU. Ce genre de toxicité est surtout plus fréquentes avec ses prodrogues orales (16).

Les toxicités cardiaques sont plutôt rares, variant de 1 à 19% dans la littérature, mais bien documentées et potentiellement graves, avec un taux de mortalité de 0 à 13% retrouvé. Toute complication cardiaque contre-indique formellement la réutilisation de la molécule. Il s'agit dans la majorité des cas de douleurs thoraciques en rapport avec un vasospasme coronarien. Cette toxicité serait en lien avec le 5FU directement mais aussi ses catabolites, mais son mécanisme n'est toujours pas clairement élucidé à ce jour (17).

Les toxicités neurologiques se manifestent sous forme d'encéphalopathies. Elles sont rares, mais aussi bien documentées (18).

Si on s'intéresse aux toxicités sévères du 5-FU seul (grade 3 et 4), l'incidence est variable dans la littérature, allant de 10 à 30%. Les décès toxiques sont retrouvés avec une incidence entre 0,5 et 1%, allant jusqu'à 5% chez les patients âgés (19). L'incidence de ces toxicités est très variable en fonction de la dose et du mode d'administration du 5-FU ainsi que de son utilisation en mono ou en polychimiothérapie. Dans un article publié par André et al. en 2003, on retrouve des données de toxicité grade 3 et 4 pour le protocole LV5FU2 standard. Ces dernières étaient mesurées en utilisant les recommandations du National Cancer Institute Common Toxicity Criteria (ancien CTCAE) et sont retranscrites dans le tableau ci-dessous. Il a été décrit dans cette étude 3 décès dans les 60 jours suivant le traitement parmi les 452 patients du bras LV5FU2 soit un taux de 0,66% (20).

| Évènements | Incidence pour les grades 3 et 4 (%) |
|-----------------------|--------------------------------------|
| Neutropénie | 7 |
| Diarrhées | 4 |
| Mucite | 2 |
| Nausées / vomissement | 1 |
| Syndrome main pied | 0 |
| Total | 11 |

Tableau 3: toxicités de grade 3 et 4 dans le bras LV5FU 2 standard dans l'essai de André et al.

Une deuxième étude, anglaise, s'est intéressée à comparer des doses de 5-FU très proches de celles du protocole LV5FU2 simplifié avec d'autres protocoles de chimiothérapie. Le protocole de 5-FU comprenait : 175 mg/m² de Levofolinate, un bolus de 400 mg/m² de 5-FU et une perfusion sur 46h de 5-FU à 2800 mg/m². Les toxicités ont été recueillies en utilisant les critères du National Cancer Institute Common Terminology version 2.0. Le tableau suivant décrit les toxicités grade 3 et 4 retrouvés dans cette étude, chez un nombre conséquent de patient (n=1305) avec un taux de décès toxique de 1% (21)

| Évènements | Incidence pour les grades 3 et 4 (%) |
|-----------------------|--------------------------------------|
| Neutropénie | 9 |
| Diarrhées | 6 |
| Mucite | 2 |
| Nausées / vomissement | 4 |
| Syndrome main pied | 2 |
| Neuropathie sensitive | 1 |
| Asthénie | 13 |
| Alopécie | <1 |

Tableau 4: toxicités de grade 3 et 4 dans le bras LV5FU dans l'essai de Seymour et al.

Il existe aussi une différence de toxicité entre les méthodes d'administration de 5-FU (perfusion continue ou bolus). Une étude publiée en 1998 conclue à une association significative entre toxicité hématologique de grade 3 et 4 et le schéma en bolus, en comparaison aux schémas en perfusion continue. Concernant les toxicités extra hématologiques, seul le syndrome mains-pieds de tout grade était significativement associé au schéma avec perfusion continue en comparaison au schéma en bolus (22). Les polychimiothérapies comprenant du 5-FU, dont les protocoles les plus répandus sont le FOLFOX, le FOLFIRI, le FOLFIRINOX, le cisplatine-5FU ou encore le TPF, ont ainsi des degrés de toxicités hématologiques et extra hématologiques très variables, plus importantes que le 5-FU seul.

1. Antidote

Il existe un antidote en cas de surdosage en 5-FU, l'uridine acétate (Vistogard®), dont l'efficacité a été démontrée dans la littérature (23). Il s'agit d'un analogue pyrimidique dont la dose à administrer chez un adulte est d'un sachet de 10g per os toutes les 6 heures pour un total de 20 doses.

Ce traitement est autorisé depuis 2015 par la FDA aux États-Unis. Il est disponible après ATU en France et indiqué à la suite d'un surdosage avéré en fluoropyrimidine (5-FU ou prodrogue orale), ceci indépendamment de la présence de symptômes. Il est aussi indiqué en cas de symptômes évocateurs d'une toxicité sévère et précoce. Dans tous les cas, l'uridine acétate doit être administré dès que possible et au plus tard 96h après l'administration de 5-FU, ce qui pose un problème important du fait de l'absence de stock de ce médicament sur le sol européen.

m. Interactions médicamenteuses

Sur la RCP du produit, l'association du 5-FU aux anti-vitamines K est déconseillée (augmentation du risque hémorragique), ainsi que l'association avec la phénytoïne ou la fosphénytoïne.

L'association avec le vaccin anti amarile et d'autres vaccins vivants atténués est formellement contre indiquée, de manière similaire aux autres chimiothérapies cytotoxiques.

Doivent aussi être pris en compte les différentes associations suivantes :

- Acide folinique: potentialisation des effets indésirables du fluorouracile.
- Interferon alpha: augmentation de la toxicité gastro-intestinale du fluorouracile.
- Metronidazole et ornidazole: augmentation de la toxicité du fluorouracile par diminution de sa clairance.

Par ailleurs, Diasio et al. ont mis en évidence en 1998 une interaction entre le 5-FU et la sorivudine, un antimétabolite avec une activité anti virale qui inhibe la DPD et a comme conséquences une augmentation des toxicités potentielles du FU (24). La sorivudine n'est plus utilisé à ce jour en pratique clinique en France.

n. Mécanismes de résistance

Il existe de nombreux mécanismes de résistance décrits au 5-FU à ce jour (25)(26) :

- Augmentation de TYMS (par amplification génique par exemple) afin de rétablir son activité enzymatique malgré la présence de 5-FdUMP.
- Diminution de l'affinité de la TYMS pour le 5-FdUMP.
- Surexpression de DPD au niveau tumoral, avec une déstabilisation de l'équilibre anabolisme / catabolisme en faveur de ce dernier.

- Mutation de TP53 au niveau tumoral, avec l'absence de signal apoptotique malgré la présence de dommages de l'ADN.
- Diminution d'activité de la thymidine phosphorylase, avec pour conséquence une diminution des anabolites cytotoxiques du 5FU comme la 5-FdUMP.
- Diminution des folates ou des polyglutamates en intra tumoral qui sont nécessaires pour stabiliser le complexe TYMS-5-FdUMP.
- Amplification d'autres voies de fabrication des pyrimidines, indépendantes de la TYMS.

I.1.C Capécitabine

a. Historique

Devant la mauvaise biodisponibilité orale du 5-FU, ses toxicités spécifiques et ses problématiques d'administration par voie intraveineuse (diffuseur sur plusieurs jours), s'est naturellement posé la question d'un traitement cytotoxique alternatif notamment par voie orale.

Parmi les fluoropyrimidines orales synthétisées dans les suites de l'avènement du 5-FU, appelées les 5'désoxynucléosides; la 5'-Deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) se distingue par son activité antitumorale sur des lignées cellulaires de sarcome murin (27). Le 5'-DFUR est convertit principalement en 5-FU dans le tissu tumoral mais aussi au niveau du tube digestif, où il exerce donc une action cytotoxique avec des effets indésirables digestifs parfois invalidants. Cette molécule était utilisée en pratique clinique en oncologie au Japon dans les années 1980 et 1990.

Afin de réduire les toxicités digestives de ce type de molécule, un dérivé carbamate du 5'-DFUR, la capécitabine est développée et décrite dans la littérature à partir du milieu des années 1990. Cette molécule nécessite un premier passage hépatique

avant sa dégradation en 5'-DFUR puis en 5-FU, réduisant donc la toxicité digestive en comparaison au 5'-DFUR. On retrouve les premiers articles décrivant l'utilisation de la capécitabine dès 1996. Une phase I en 1998 par Mackean et al. proposait pour la phase II des doses journalières de 2510 mg/m² et montrait des résultats de réponse tumorale encourageants, surtout dans les cancers digestifs et du sein (28). La capécitabine, commercialisée sous le nom de Xéroda®, est utilisée à partir de 2004 suite aux essais cliniques de phase III dans le cancer du côlon en phase avancée (29) et en phase adjuvante (30) et est encore largement utilisée à ce jour dans cette indication ainsi que dans de nombreuses autres localisations.

b. Structure

La structure de la capécitabine est plus complexe que celle du 5FU.

La formule moléculaire de la capécitabine est la suivante : C₁₅H₂₂FN₃O₆.

Il s'agit d'un carbamate, obtenu à partir de la cytidine, un nucléoside dont la base pyrimidique est une cytosine. La cytosine diffère de l'uracile car le carbone 4 du noyau pyrimidique est porteur d'une fonction amine (NH₂) et non d'une fonction cétone (O). La cytidine est obtenue à partir de la liaison de la molécule de cytosine à un ribose. La capécitabine est donc une cytidine pour laquelle on a remplacé en position carbone 5 l'hydrogène par un atome de fluor et à laquelle le groupe amino-acide en position 4 est converti en son dérivé N-(penyloxy)carbonyl, comme visible dans la figure 6.

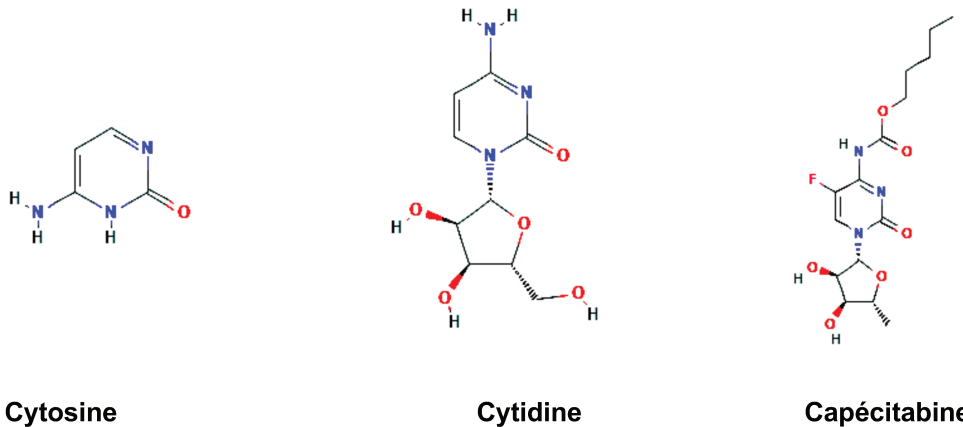


Figure 6 : structure chimique 2D de la cytosine, de la cytidine et de la capécitabine. Source : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

c. Mécanisme d'action

Sur le plan cytotoxique, la capécitabine étant une prodrogue orale du 5-FU, son action in fine via les mécanismes précédemment décrits sur l'ADN, l'ARN et la TYMS reste la même.

Au total, la capécitabine appartient aux groupes des cytotoxiques antimétabolites fluoropyrimidiniques, il s'agit aussi d'une prodrogue orale, un carbamate, un agent organofluoré et un membre de la famille des cytidines.

d. Pharmacocinétique

La capécitabine a une excellente biodisponibilité orale et passe la barrière intestinale sans être dégradée. Sa dégradation en son métabolite actif, le 5-FU, se fait via trois enzymes clefs au niveau hépatique et tumoral. La capecitabine est d'abord métabolisée en 5'déoxy-5-fluorocytidine (5'dFCR) par des carboxylesterases (CES 1 et 2) présentes quasi exclusivement au niveau hépatique, puis en 5'-déoxy-5-fluorouridine (5'dFUR) sous l'action de la cytidine désaminase (CDA), surexprimée au niveau hépatique mais aussi au niveau tumoral. Finalement, la métabolisation du 5'dFUR en son anabolite actif, le 5-FU, se fait sous l'action de la thymidine

phosphorylase (TYMP) ou de l'uridine phosphorylase (UPP1 et 2), enzymes dont l'activité est bien plus importante au niveau tumoral et hépatique comparée aux autres tissus (31). Avec cette pharmacocinétique particulière, certains auteurs considèrent l'action de la capécitabine plus ciblée que celle du 5-FU au niveau du tissu tumoral. La figure ci-dessous permet de résumer le métabolisme de la capécitabine.

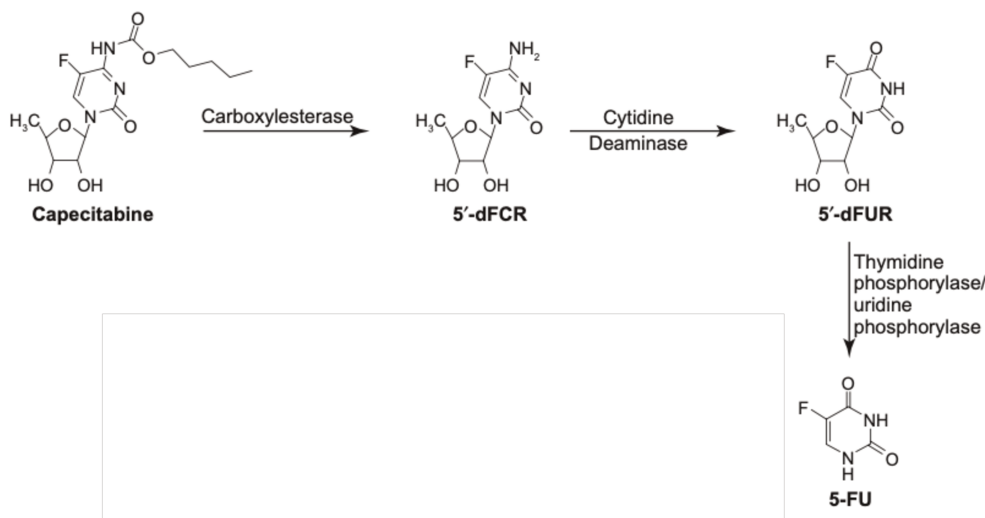


Figure 7 : Pharmacocinétique de la capécitabine. Source : (32)

La capécitabine, contrairement à d'autres fluoropyrimidines orales, ne subit pas de dégradation intestinale sous l'effet de la pyrimidine nucléoside phosphorylase, enzyme surexprimée au niveau intestinal. Ceci permet d'atteindre des doses importantes de métabolites cytotoxiques en intracellulaire tout en évitant la toxicité digestive limitante, (sous forme de diarrhées principalement), obtenue avec des molécules comme le 5'-DFUR (28). Cette spécificité explique ainsi le succès de la capécitabine parmi les autres fluoropyrimidines orales. Le catabolisme de la capécitabine se fait de manière similaire à celui du 5-FU, une fois la molécule convertie en cet anabolite actif.

La capécitabine et certains de ses métabolites sont liés aux protéines et principalement à l'albumine, mais pour le 5-FU la fraction liée aux protéines reste

faible, de l'ordre de 10%. La demi vie des fluoropyrimidines est courte, 51 minutes pour la capécitabine et 45 minutes pour le 5FU. L'élimination du 5FU se fait à 95% dans les urines, avec une excrétion fécale minime. On retrouve principalement du FBAL comme métabolite de la capécitabine au niveau urinaire. Finalement, il existe une modification de sa pharmacologie dans le temps, avec une augmentation de 22% des concentrations de 5-FU à J14 en comparaison à J1 pour la dose de 2 510 mg/m²/jour de capecitabine sur 14 jours. Ceci explique les modalités de prise de cette molécule, avec une semaine d'arrêt après J14, afin de permettre l'élimination des métabolites du 5-FU dont le FBAL. La capécitabine peut être prise après un repas, car même si on observe une diminution du taux d'absorption de la molécule au décours de l'ingestion d'aliments, il n'y a finalement que peu d'effet sur l'aire sous la courbe (ASC) du 5'DFUR ou du 5-FU.

e. Indications en pratique clinique

La capécitabine a l'AMM en France dans le cadre du traitement des :

- Cancers colorectaux, en situation adjuvante ou métastatique
- En association avec la radiothérapie dans le cancer du rectum (schéma CAP50)
- Cancers de l'estomac ou de la jonction oeso-gastrique en phase avancée
- Cancers du sein

La capécitabine est aussi prescrite dans le cadre du cancer du pancréas et de certaines tumeurs rares comme les carcinomes neuro-endocrines.

f. Contre-indications

Outre les contre-indications habituellement retrouvées avec les chimiothérapies telles que l'hypersensibilité, la grossesse, l'allaitement, les insuffisance sévères hépatiques

et rénales, on retrouve sur la RCP du produit sa contre-indication chez les patients présentant un déficit complet en DPD. La molécule est aussi contre-indiquée en cas de réaction sévère et inattendue à un traitement contenant une fluoropyrimidine.

g. Posologies

La capécitabine existe en comprimés pelliculés de 150 ou de 500 mg, elle peut être utilisée en monothérapie ou en association, et la dose varie en fonction du protocole utilisé. En monothérapie, la molécule est fréquemment prise à la dose de 1250 mg/m² deux fois par jour, le matin et le soir, dans les 30 minutes qui suivent un repas, pendant 14 jours consécutifs suivi de 7 jours de pause.

En association, la dose de capécitabine peut varier de 625 mg/m² à 1000 mg/m² deux fois par jour. Il existe des schémas continus de prise de capécitabine, notamment avec la radiothérapie. Le tableau ci-dessous résume les principaux protocoles utilisant de la capécitabine en utilisation pratique en France.

| Protocole | Dose de capécitabine | Autres molécules (à J1) |
|--|---|--|
| Capécitabine monothérapie (J1 - J21) | 2500 mg/m ² / jour en 2 prises 14 jours puis 7 jours d'arrêt | Aucune |
| Capécitabine avec radiothérapie | 1600 à 2000 mg/m ² /jour en deux prises, les jours de RT | Aucune |
| Xélox (J1 - J21) | 2000 mg/m ² / jour en 2 prises pour 14 jours puis 7 jours d'arrêt. | Oxaliplatine 130 mg/m ² (120 min) |
| Xéliri (J1 - J21) | 1600 à 2000 mg/m ² / jour en 2 prises pour 14 jours puis 7 jours d'arrêt | Irinotécan 200 à 240 mg/m ² (90 min) |
| CAPTEM (J1 - J28) | 1500 mg/m ² / jours en 2 prises pour 14 jours puis 14 jours d'arrêt | Témozolomide 150 puis 200 mg/m ² en 1 prise J10 à J14 |
| Capécitabine cisplatine trastuzumab (J1 – J21) | 2000 mg/m ² en 2 prises pour 14 jours puis 7 jours d'arrêt. | Cisplatine 80mg/m ² (60 min) + trastuzumab |

Tableau 5 : principaux protocoles de chimiothérapie contenant de la capécitabine utilisés en pratique clinique en France (non exhaustif).

Il n'y a pas de recommandations sur la RCP européenne du produit, d'ajustement de dose chez des patients présentant une insuffisance hépatique. La capécitabine est contre-indiquée en cas d'insuffisance rénale sévère avec débit de filtration glomérulaire (DFG) < 30 mL/min et il existe des recommandations de diminution de posologie pour les insuffisances rénales modérées (clairance entre 30 et 60 mL/min), de 25% pour la dose de 1250 mg/m² deux fois par jour. Il n'y a pas de recommandations de diminution de dose chez les patients âgés, mais on observe plus de toxicités chez les patients au-delà de 65 ans dans les études s'étant intéressées à la question (33).

h. Toxicités

La toxicité de la capécitabine, comme celle du 5-FU, est dose dépendante et varie aussi en fonction de l'utilisation du produit en monothérapie ou en association avec d'autres molécules de chimiothérapie ou la radiothérapie.

En monothérapie et à la dose de 1250 mg/m², on note principalement des effets secondaires digestifs avec diarrhées, mucites, douleurs abdominales. Il est décrit des effets secondaires communs des chimiothérapies comme des nausées ou vomissements, une asthénie, une anorexie. L'alopecie est rare. Il a aussi été décrit, comme avec le 5-FU, une toxicité neurologique et cardiaque, en lien avec les catabolites du 5-FU. Une toxicité spécifique, nettement plus fréquente avec la capécitabine en comparaison au 5-FU est le syndrome main-pied. Sur le plan hématologique, la toxicité est modérée mais bien existante. Sur le plan biologique, il est nécessaire de surveiller le bilan hépatique avec la bilirubinémie. Le tableau ci-dessous reprend les toxicités tout grade et grade 3 et 4 chez 995 patients ayant reçu

en prise en charge adjuvante d'un cancer du côlon de la capécitabine pendant 6 mois à la dose initiale de 1250 mg/m² matin et soir (30).

| Évènement | Incidence tout grade (%) | Incidence grade 3 et 4 (%) |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Diarrhées | 46 | 11 |
| Nausées ou vomissements | 36 | 3 |
| Mucite | 22 | 2 |
| Syndrome main pied | 60 | 17 |
| Asthénie | 23 | 1 |
| Douleur abdominale | 10 | 2 |
| Alopécie | 6 | 0 |
| Anorexie | 9 | <1 |
| Neutropénie | 32 | 2 |
| Hyperbilirubinémie | 50 | 20 |

Tableau 6: toxicités tout grade et grade 3 et 4 pour le bras capécitabine dans l'essai de Twelves et al.

En phase métastatique dans le cancer colorectal, chez 297 patients traités à la même dose de 1250 mg/m² deux fois par jour 14 jours sur 21, l'équipe de Van Cutsem et al. retrouve des toxicités similaires à celles retrouvées en adjuvant, comme décrit dans le tableau ci-dessous (34).

| Évènement | Incidence grade 3 et 4 (%) |
|-----------------------------|----------------------------|
| Diarrhées | 10,7 |
| Mucite | 1,3 |
| Syndrome main pied | 16,2 |
| Thrombose veineuse profonde | 1,6 |
| Anémie | 2,7 |
| Neutropénie | 2 |

| | |
|---------------------|------|
| Thrombopénie | 1 |
| Neutropénie fébrile | 0 |
| Hyperbilirubinémie | 28,3 |
| Élévation ALAT | 0,7 |
| Élévation ASAT | 0,7 |
| Élévation PAL | 3 |
| Hyperglycémie | 4 |

Tableau 7: toxicités de grade 3 et 4 (dont les paramètres biologiques) pour le bras capécitabine dans l'essai de Van Cutsem et al.

La toxicité cutanée de la capécitabine, principalement représentée par le syndrome mains-pieds, peut être expliquée par l'expression plus importante au niveau de la face palmaire des deux enzymes DPD et TYMP, pouvant aboutir localement à une plus forte concentration de 5-FU et ses catabolites, toxiques pour les cellules souches de la peau (16).

i. Antidote

L'uridine triacetate (Vistogard®), utilisé dans les intoxications au 5-FU, a aussi son efficacité dans les intoxications à la capécitabine, avec les mêmes modalités déjà citées (23).

j. Interactions médicamenteuses

Sur la RCP européenne du produit, la capécitabine est contre indiquée en cas de traitement récent ou concomitant avec de la brivudine. Il s'agit d'un analogue nucléosidique de la thymidine avec une activité contre le virus de la varicelle, ayant comme conséquence une diminution de l'activité de la DPD et donc une forte

augmentation de l'activité cytotoxique du 5-FU avec des toxicités graves rapportées dans la littérature (35).

La RCP du produit mentionne aussi une précaution particulière devant un risque d'interactions médicamenteuses entre la capécitabine et les médicaments ci-dessous :

- Anticoagulants oraux coumariniques
- Phénytoïne
- Acide folinique
- Antiacides
- Allopurinol
- Interféron alpha

k. Mécanismes de résistance

Nous n'avons pas retrouvé dans la littérature d'articles décrivant des mécanismes de résistance au 5-FU spécifiques à sa pro-drogue orale.

I.1.D Flucytosine

La Flucytosine (Ancotil®) est une molécule commercialisée en France depuis 1998, utilisée par voie orale (comprimés de 500mg) ou en perfusion intra veineuse.

Il s'agit d'un antimycotique à usage systémique. Ce médicament fait aussi partie de la famille des antimétabolites, car la molécule est dégradé en 5-FU après l'action de la cytosine déaminase (36).

Cette molécule a une activité antimycotique et est indiquée dans le traitement des mycoses systémiques sévères telles que les candidoses, cryptococcoses, chromomycoses ou aspergilloses, souvent en association avec l'amphotéricine B.

La dose utilisée du médicament dépend de la fonction rénale.

Du fait de l'action cytotoxique de cette molécule via le 5FU, cette molécule est aussi contre indiquée en cas de déficit complet avéré en DPD.

I.2. Le déficit en DPD

I.2.A Pharmacogénétique

a. Pharmacogénétique et pharmacogénomique

La pharmacogénétique, terme utilisé depuis les années 1950, correspond à la variabilité de réponse individuelle à une thérapeutique, en fonction de son hérédité génétique. C'est en 1959 que Vogel s'attache à définir pour la première fois ce terme (37).

On peut considérer Pythagore (510 av. JC) comme un des ancêtres des principes de pharmacogénétique car il fut le premier à évoquer le favisme, décrivant des réactions graves touchant certains individus après ingestion de fèves et non d'autres. Presque 2500 ans plus tard, en 1956, l'équipe de Carson et al. mettait finalement en évidence le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase.

Avec les travaux sur le génome dans les années 1990 apparaît la notion de pharmacogénomique, qui se veut plus large que la pharmacogénétique avec l'hypothèse que des variations du génome, même infimes, peuvent influencer de manière plus ou moins importante la réponse d'un individu à une drogue. Finalement, une conférence internationale d'harmonisation en 2008 décide de définir la pharmacogénomique comme l'étude des variations des caractéristiques de l'ADN et de l'ARN liée à la réponse à un médicament. Cette conférence définit la pharmacogénétique, elle, comme l'étude des variations des séquences d'ADN liée à

la réponse aux médicaments (38). Ces termes sont finalement très proches et certains les considèrent comme interchangeables.

Les pharmacogénéticiens utilisent une nomenclature commune pour décrire les variants possibles d'un gène à l'origine d'une variabilité de réponse à une molécule donnée, appelée parfois un pharmacogène. Une deuxième notion de pharmacogénomique importante est celle de « métabolizer » (métaboliseur en français). Les métaboliseurs normaux ou « extensive métabolizer » (EM) sont les individus avec deux allèles d'un pharmacogène ayant comme conséquence un phénotype fonctionnel et qui vont donc métaboliser normalement un médicament donné. Les « poor métabolizers » (PM) ont eux deux allèles mutés entraînant leur perte de fonction et auront donc un phénotype non fonctionnel. Les « intermediate métabolizers » portent eux un allèle sur les deux muté, pouvant parfois impliquer un phénotype moins fonctionnel. Finalement, les « ultrarapid métabolizer » portent des allèles impliquant au contraire un gain de fonction au niveau du phénotype.

Garrod, qui publie en 1906 un article nommé « Inborn Errors of Metabolism » est le premier scientifique à supposer que les effets secondaires inhabituels d'une molécule peuvent être expliqués par le métabolisme anormal d'un individu. Des chercheurs se sont efforcés de décrire, principalement depuis les années 1960, la pharmacocinétique et la pharmacodynamique des différentes molécules utilisées en pratique clinique grâce à des méthodes robustes de dosage des médicaments et leurs métabolites dans le plasma et les tissus. Ces travaux ont permis de mettre en évidence certaines enzymes clés dans le métabolisme ou le transport de ces médicaments. Une étude estime que près d'un tiers des effets indésirables graves aux thérapeutiques actuelles

pourraient être expliqués par des facteurs génétiques et donc potentiellement évités (39).

L'importance de la pharmacogénomique s'illustre dans deux modèles précis de pharmacocinétique des médicaments :

- Les prodrogues, qui sont souvent métabolisées par une ou quelques enzymes clefs : par exemple, clopidogrel et CYP2C19 ou codéine et CYP2D6. La perte de fonction de ces enzymes peut ainsi aboutir à des effets secondaires importants.
- Pour des médicaments avec une marge de dosage étroite et métabolisés par un système enzymatique clef, par exemple TPMT et 6-mercaptopurine. Un déficit enzymatique de métabolisme pourrait là aussi aboutir à des conséquences cliniques importantes aux doses utilisées.

Au contraire, les médicaments dont la pharmacocinétique n'est pas suffisamment bien connue, ceux dont le métabolisme ne dépend pas d'un seul système enzymatique clef mais plutôt de multiples voies enzymatiques, ou bien ceux dont l'activité thérapeutique ne dépend pas d'un spectre de dosage étroit, sont de moins bons candidats au développement de leur pharmacogénomique en parallèle de leur utilisation en pratique clinique. Le tableau ci-dessous résume les 24 molécules et leurs gènes bénéficiant d'une recommandation de la part du clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC), un des principaux groupes de pharmacogénéticiens actifs dans le domaine.

| Molécule | Gène impliqué |
|---|------------------|
| Mécanisme pharmacodynamique | |
| Ivacaftor | CFTR |
| Warfarine | CYP4F2 et VKORC1 |
| Rasburicase | G6PD |
| Abacavir, allopurinol, carbamazépine, | HLA-B |
| Oxcarbazépine | HLA-B |
| Interférons (peginterferon alfa-2a, | IFNL3 (IL28B) |
| Succinylcholine et anesthésique inhalés | RYR1 et CACNA1S |
| Mécanisme pharmacocinétique | |
| Efavirenz | CYP2B6 |
| Clopidogrel, IRS (ex : citalopram, | CYP2C19 |
| Celecoxib et autres AINS (ex : aspirine, | CYP2C9 |
| Codéine, IRS, ATC, odansétron, tropisétron, | CYP2D6 |
| Tacrolimus | CYP3A5 |
| 5-FU, capécitabine, Tégafur | DPYD |
| Azathioprine, mercaptopurine, thioguanine | TPMT et NUDT15 |
| Simvastatine | SLCO1B1 |
| Atazanavir | UGT1A1 |

Tableau 8 : médicaments et pharmacogènes correspondant pour lesquels il existe des recommandations de dosage en fonction des résultats de test phénotypique ou génotypiques.
Source : <https://cpicpgx.org>.

b. Pharmacogénomique et cancérologie

Le tableau ci-dessus met en évidence le fait qu'il existe à ce jour peu de molécules en oncologie possédant des recommandations de pharmacogénomique. Comme précisé plus haut, cela peut être dû au manque de gènes clefs identifiés dans la pharmacocinétique des autres médicaments.

A ce jour, aucun pays au monde n'a rendu obligatoire un test génétique avant la prescription d'une molécule avec une activité cytotoxique, afin de prendre en compte le risque de toxicité induit par un système de catabolisme insuffisant. La possibilité d'un test génétique et / ou phénotypique est par contre mentionnée dans plusieurs RCP de produits en oncologie, par exemple purinéthol et TPMT pour la FDA américaine.

Par contre, l'intérêt de l'oncologie pour la pharmacogénomique se porte essentiellement à ce jour sur les mutations somatiques retrouvées sur les cellules tumorales. En effet l'analyse génétique des tissus tumoraux a permis depuis déjà de nombreuses années de définir des sous populations de patients chez lesquelles une molécule donnée serait ou ne serait pas active. Les exemples sont nombreux, notamment en oncologie thoracique (cancer du poumon et mutation EGFR), en oncologie digestive (cancer du côlon et mutation NRAS et KRAS) et dans les cancers de la femme (cancer du sein et amplification HER2).

d. Problématiques de la pharmacogénomique à grande échelle.

Aujourd'hui, les principaux obstacles au développement de la pharmacogénétique, discutés dans l'article de Roden et al. publié en 2019 (40), sont:

- Les ressources disponibles en pratique pour dépister de larges proportions de population.
- Le nombre de patients amenés à bénéficier de cette intervention, en général faible comparé à la population dépistée.
- Les considérations éthiques, en rapport par exemple avec le caractère génétiquement transmissible des anomalies retrouvées ou bien en rapport avec

d'autres mutations incidentes potentiellement retrouvées sur les analyses ADN réalisées.

- Finalement, le rapport bénéfice / coût que peut représenter ces techniques de dépistage.

I.2.B Toxicités graves aux fluoropyrimidines et déficit en DPD

a. Littérature

Depuis le début de son utilisation en tant qu'agent anti cancéreux, il a été décrit des toxicités graves et même des décès toxiques après 5-FU, aux doses conventionnelles alors utilisées. Ansfield et al. rapportent dès l'année 1962, 32 décès toxiques parmi 1091 patientes traitées avec du 5-FU à la dose moyenne de 15 mg/kg par jour en bolus pendant 5 jours tous les mois, soit un taux de décès toxique d'environ 3%. Pendant les trente années qui ont suivi, un intérêt croissant a été porté pour déterminer la pharmacocinétique et la pharmacodynamique du 5-FU afin d'expliquer ces toxicités graves voir létales -malgré des doses habituelles de cette thérapeutique-.

De manière parallèle, dans la littérature pédiatrique des années 80, sont rapportés plusieurs cas de pyrimidinémie familiale (appelée encore thymine-uracilurie ou pyrimidinurie) chez des enfants avec des symptômes neurologiques plus ou moins sévères (épilepsie, retards mentaux) mais non spécifiques (41). En 1985, Tuchman et al. rapportent un cas de toxicité sévère au 5-FU chez une jeune femme de 27 ans sans symptôme neurologique pré existant,. Les auteurs soulignent que la seule anomalie biologique notable retrouvée chez la patiente était des taux élevés d'uracile et de

thymine sanguin et urinaire. Ces anomalies ont aussi été retrouvés chez un des frères de la patiente.

b. La dihydropyrimidine déshydrogénase

Physiologiquement, l'action de cette enzyme est la dégradation initiale de l'uracile et de la thymine en 5,6-dihydrouracil et 5,6-dihydrothymine respectivement. Pour mémoire, l'uracile et la thymine sont des nucléotides, nécessaires à la formation de l'ADN et de l'ARN mais aussi à la fabrication de molécules comme l'adénosine triphosphate (ATP) et le guanosine triphosphate (GTP) qui servent de sources d'énergie à la cellule. Les produits finaux de la dégradation des pyrimidines sont le NH₃, le CO₂, ainsi que la β-alanine et l'acide β-aminoisobutyrique respectivement pour l'uracile et pour la thymine comme le résume la figure ci-dessous.

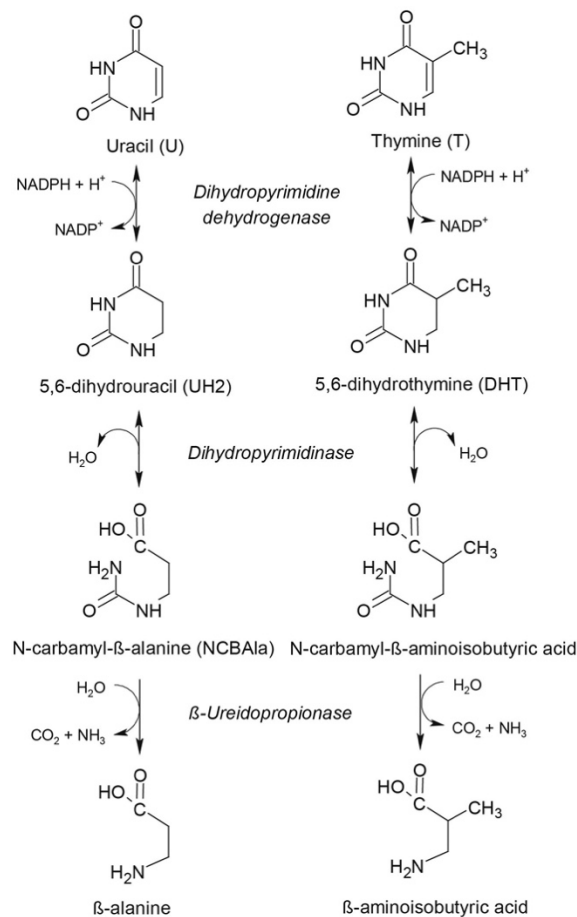


Figure 8 : métabolisme de l'uracile et de la thymine (42)

Il s'agit d'une enzyme ubiquitaire, surexprimée dans le tissu hépatique et dans les cellules mononuclées du sang périphérique. Cette enzyme respecte une activité gaussienne chez l'homme (43), il existe donc une importante variabilité d'activité à l'échelle interindividuelle. La variation circadienne d'activité de cette enzyme a été étudiée, avec un pic d'activité la nuit entre 22h et 4h, et un minimum d'activité entre 10 et 14h (14).

Cette enzyme a rapidement été mise en évidence comme la voie de métabolisation préférentielle du 5-FU. En effet plus de 85% du 5-FU est dégradé en ses différents catabolites par un système enzymatique dont la première étape est la dégradation du 5-FU en 5-FUH₂ via la DPD (**figure 5**). Cette première étape de dégradation se fait via un mécanisme NADPH – dépendant.

En compétition avec l'uracile et la thymine, il a été démontré que le 5-FU est le substrat préférentiel de la DPD, au moins dans les cellules hépatique (9).

La structure cristalline de la DPD a été décrite dans plusieurs articles, ainsi que le complexe crée avec le 5-FU et le NADPH, avec des domaines de liaison clef, dont la bonne conformation est nécessaire au fonctionnement de l'enzyme. La figure ci-dessous est tirée de l'article de Dobritsch et al. et montre la structure cristalline avec les différents domaines de la DPD (44).

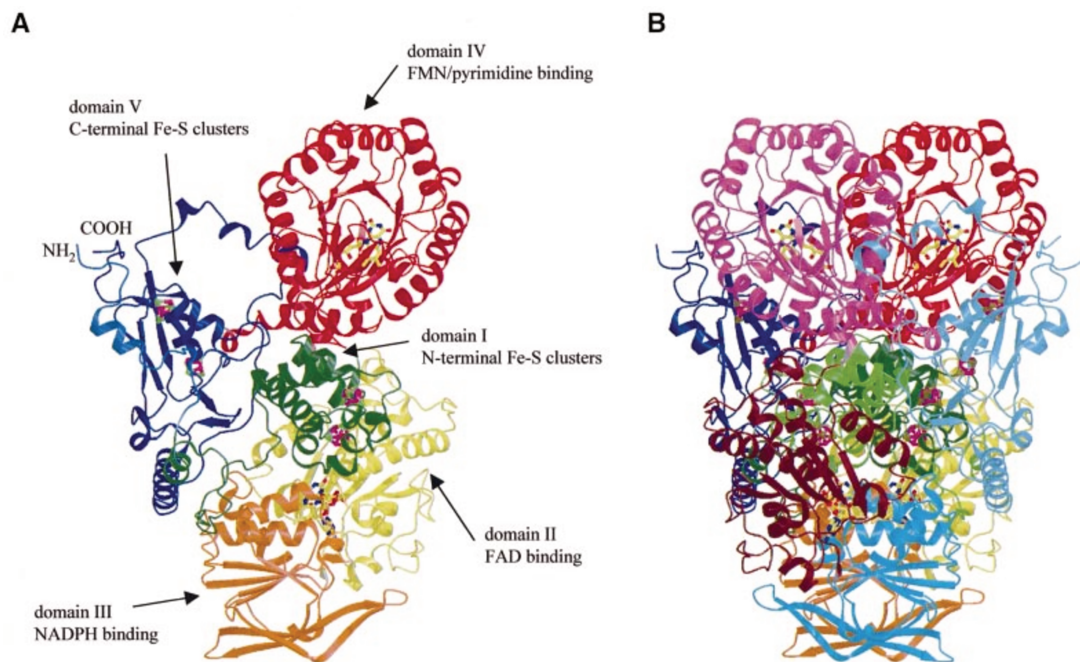


Figure 9 : structure cristalline de la dihydropyrimidine déshydrogénase provenant de tissu hépatique de porc décrite par Dobritzsch et al.

Le gène codant pour la synthèse de la DPD est le gène *DPYD*. Il a été caractérisé en 1994 par Yokota et son équipe. Il s'agit d'un gène d'une taille importante, avec 4399 nucléotides codant pour 23 exons sur 950 kb, situé près du centromère du chromosome 1, en position 1p 21.3, comme montré sur la figure ci-dessous (45) :

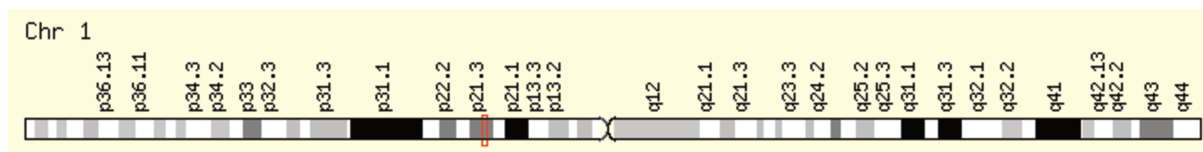


Figure 10 : localisation du gène DPYD sur le chromosome 1. Source: <https://www.genecards.org>

Le gène *DPYD* code ainsi l'information génétique d'une protéine avec 1025 acides aminés. Il existe à ce jour plusieurs centaines de polymorphismes génétiques de ce gène décrits dans la littérature, principalement sous forme de mutation ponctuelle appelés SNP (single-nucleotide polymorphism) et avec des effets plus ou moins

importants sur la fonction de l'enzyme DPD selon les conséquences du polymorphisme sur la protéine synthétisée et le caractère hétérozygote ou homozygote de ce polymorphisme.

c. Lien entre déficit en DPD et toxicités graves sous fluoropyrimidines

Avec le développement des connaissances de la pharmacocinétique du 5-FU, la DPD est rapidement décrite dès les années 1980 comme l'enzyme clef du catabolisme intracellulaire du 5-FU (4).

Après des travaux sur un cas de toxicité grave au 5-FU et après avoir mesuré l'activité de la DPD sur les cellules mononuclées du sang périphérique chez la patiente et dans l'ensemble de sa famille, Diasio et al. est le premier à décrire le probable lien entre déficit d'activité de la DPD et toxicité grave au 5-FU (46).

Dès 1993 avec la publication des travaux de Lu et al. l'importance d'une mesure de l'activité de la DPD avant mise en route d'une chimiothérapie par 5-FU est ainsi soulignée (43). Ce dernier propose de mesurer l'activité DPD des cellules mononuclées dans le sang périphérique en mesurant les différents catabolites du 5-FU sur chromatographie en phase inversée après prélèvement sanguin.

Finalement, le même Diasio publie en 1994 un état des connaissances sur l'activité de la DPD et la chimiothérapie par 5-FU, suggérant déjà à l'époque (9) :

- Un lien entre la toxicité au 5-FU et l'activité de la DPD, bien que non encore démontrée formellement dans des essais cliniques.
- Le caractère parfois familial du déficit d'activité de la DPD
- Une activité circadienne de la DPD, avec un pic d'activité nocturne
- Le caractère homozygote ou hétérozygote du déficit d'activité de la DPD, pouvant expliquer des toxicités plus ou moins sévères sous 5FU.

- La petite proportion de patients avec une activité DPD déficitaire dans la population générale

Depuis ces publications, les preuves entre déficit en DPD et toxicité sévères sous 5-FU mais aussi sous sa prodrogue la capécitabine se sont accumulées, non seulement à travers de nombreux rapports de cas dans la littérature mais aussi suite à la publications d'essais cliniques rétrospectifs comme prospectifs (47). Les essais cliniques portant sur la corrélation entre déficit en DPD et toxicité sous 5-FU ont tout d'abord utilisé des test phénotypiques, évaluant par exemple l'activité DPD sur les cellules mononuclées du sang périphérique ou bien le ratio dihydrouracile sur uracile (48) (49). Après les années 2000 et les connaissances accumulées sur le génome et ses variant notamment sous forme de SNP, beaucoup de travaux se sont attachés à montrer des corrélations entre déficit en DPD et toxicité sous 5-FU via l'étude des variations du gène de la DPD (50).

Concernant les autres voies d'utilisation du 5-FU, il a été rapporté au moins un cas de toxicité sévère après utilisation de 5-FU topique avec des symptômes typiques (colite et de neutropénie de grade 4) chez un patient, une semaine après l'application de la forme topique. L'absorption systémique du 5-FU est en effet estimée à 10% de la dose topique et peut donc avoir de conséquences graves pour les malades, surtout ceux présentant un déficit complet comme le patient en question (51).

d. Autres explications aux toxicités graves sous fluoropyrimidines

Dans une étude rétrospective sur des données de patientes ayant reçu une fluoropyrimidine entre 2001 et 2011 et dont l'abstract a été présenté mais les données non publiées, Boisdrion et al. décrit de manière rétrospective chez les patients ayant présenté une toxicité de grade 3, 4 et 5 après administration de fluoropyrimidine (n

=247), la présence d'une mutation hétérozygote ou homozygote délétère de *DPYD* chez 33% des patients (n = 82).

Cette étude, ainsi que les données d'autres études, souligne néanmoins que d'autres pistes doivent être étudiées pour expliquer les toxicités aux fluoropyrimidines autres que celle du déficit d'activité de la DPD.

L'enzyme responsable de la deuxième étape de catabolisme du 5-FU après la DPD est la dihydropyrimidinase (DHP). La DHP est codée par le gène *DPYS*, présent sur le chromosome 8 en position q22. Ce gène consiste en 10 exons, contient 1560 paires de bases, et code l'information génétique d'un polypeptide de 519 acides aminés. Pour mémoire, la DHP dégrade le 5-FUH₂ en 5-FUPA. Cette enzyme se situe principalement dans le tissu hépatique et rénal. Le premier patient ayant présenté une toxicité sévère après 5-FU avec une activité DPD normale sur les cellules mononuclées du sang périphérique mais présentant une mutation délétère de *DPYS* a été décrit par van Kuilenburg et al. en 2003 (11) Ce dernier a estimé la fréquence de la mutation sur l'allèle en question dans la population normale à moins de 0,5%. Dans une étude japonaise, 8 individus sur 391 (2%) ont présenté à l'état hétérozygote un variant supposé délétère du gène *DPYS* (52). Van Kuilenburg propose même dès 1999 une technique de chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) permettant d'identifier les patients avec un déficit d'activité de la dihydropyrimidinase (53).

Un deuxième axe de travail s'est construit autour des travaux de Hirota Offer et concerne la régulation de l'expression de la DPD au niveau hépatique. En effet, des microARN (miRNA), miR-27a et miR-27b mais aussi mi-R-582-5p et miR-134 ont comme rôle de réguler l'expression de la DPD à partir de sites de reconnaissance

présents sur le gène *DPYD* en la réprimant. La surexpression de ces deux miRNA a donc comme conséquences in vitro l'augmentation du 5-FU via la diminution de son catabolisme par la DPD (54) (55). En 2016, Meulendijks et al. ont étudié deux polymorphismes de miR-27a chez 1592 patients et ont mis en évidence une association entre la présence d'un des deux variant de miR-27a et les toxicités grade 3,4 et 5 après fluoropyrimidine chez des patients aussi porteurs d'un variant du gène *DPYD*, suggérant ainsi l'intérêt d'un screening combiné *MIR27A/DPYD* pour identifier les patients à risque de toxicité sévère après fluoropyrimidine.

Un troisième axe de travail concerne la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), dont le rôle est de dégrader de façon irréversible le 5,10 méthylène tétrahydrofolate (MTHF) en 5-méthyltétrahydrofolate. Pour rappel, c'est le MTHF qui permet la stabilisation du complexe TYMS/FdUMP et donc une meilleure compétition à la synthèse endogène de thymine. Dans un essai étudiant 75 patients chinois atteints de cancer de l'estomac, Lu et al. trouve une association entre un polymorphisme du gène MTHFR et la réponse mais aussi la toxicité aux fluoropyrimidines (56).

Un quatrième axe concerne les polymorphismes génétiques du gène de la TYMS, notamment au niveau de son promoteur et de sa région 3'-UTR, étudié par Lecomte et al. Ce dernier conclue que le génotypage TYMS joue un rôle important pour prévenir les toxicités au 5-FU (57).

Un cinquième axe concerne surtout la capécitabine, dont le métabolisme nécessite l'action de la CDA, qui désamine le 5'déoxy-5-fluorocytidine en 5'-déoxy-5-fluorouridine principalement dans le tissu hépatique. Une diminution d'activité du CDA aurait comme conséquences une accumulation de métabolites du 5'déoxy-5-fluorocytidine, dont fait partie le 5-FdUMP (lui-même inhibiteur de la TYMS). Un lien

entre le syndrome main pied et un polymorphisme de CDA a ainsi été rapporté en 2011 par Caronia et al. (58).

En 2013, Longanayagam s'est intéressé aux relations entre toxicité sévères et les variants dans les gènes *DPYD*, *TYMS*, *CDA* et *MTHFR* chez 430 patients anglais dans les 4 premiers cycles de traitement comportant une fluoropyrimidine (59). Il est retrouvé une association entre un variant homozygote du gène de la *TYMS* et une l'augmentation du risque de toxicité de grade 3 et 4, mais avec une spécificité de 54% et une VPP de 25%, l'auteur n'a donc pas recommandé en pratique la recherche de ce déficit. Pour les patients traités avec de la capécitabine, un variant homozygote de *MTHFR* a été associé de manière significative avec un syndrome main pied de grade 2 à 3. De plus, deux variants du promoteur du gène codant pour l'enzyme *CDA* ont été associés de manière significative avec des diarrhées de grade 2 à 4, cependant avec une VPP de 40% soit trop basse pour recommander la réalisation de ce génotypage sans étude supplémentaire.

Finalement, il faut aussi retenir que les toxicités graves de grade 3 et 4 varient en fonction du protocole de chimiothérapie utilisé, un protocole avec une monochimiothérapie par 5-FU ou capécitabine sera nettement moins toxique qu'une chimiothérapie avec plusieurs molécules. Dans le protocole FOLFIRINOX, utilisé par exemple dans le cancer du pancréas ou du colon, sont rapportés pour les toxicités grade 3 ou 4 jusqu'à : 20% de diarrhées, 45% de neutropénie, 5.4% de neutropénie fébrile, 10% de thrombopénie, 23% d'asthénie et 14.5% de vomissements (60) (61).

I.2.C Génotypage *DPYD*

Les premiers travaux s'intéressant au dépistage de patients avec une activité DPD déficitaire ont porté sur la mesure de l'activité DPD des cellules mononuclées isolées depuis du sang périphérique, considérée comme le reflet indirect de l'activité DPD au niveau des cellules du tissu hépatique. Cette technique, mesurant la capacité des cellules mononuclées du sang à convertir du fluorouracile marqué par un radio-isotope en dihydrofluorouracile, est donc une technique phénotypique. Bien que reproductible et validée, cette technique ne s'est pas avérée être réalisable en pratique clinique pour un dépistage de masse principalement du fait du matériel nécessaire (49) (62).

Le développement des connaissances sur le gène codant pour la protéine DPD ont beaucoup accru depuis la dernière vingtaine d'années et ont permis de mettre en avant le génotypage du gène *DPYD* comme une technique de choix pour identifier au moins une partie des patients à risques de toxicité sous fluoropyrimidine.

*a. Principe du génotypage *DPYD**

Le génotypage *DPYD* s'attache à rechercher dans la séquence du gène *DPYD* la présence d'un ou de plusieurs variants aux conséquences potentiellement délétères sur la fonction de la protéine DPD. Les conséquences des variants peuvent être décrits *in vivo* au moyen d'essais cliniques mais aussi *in vitro* et, récemment, peuvent être aussi prédits avec des modélisations *in silico*. Les variants sont pour la plupart des SNP. Pour rappel, les SNP représentent 90% de l'ensemble des variations génétiques humaines connues et correspondent à la variation d'une seule paire de bases entre individus de la même espèce et dont la fréquence allélique doit être supérieure à 1%. Ce sont des mutations dans les séquences codantes ou non codantes du gène,

pouvant aboutir à une protéine avec une activité modifiée. On différencie ainsi les mutations délétères, aboutissant à une protéine DPD modifiée avec une activité diminuée et donc un risque accru de toxicité graves aux fluoropyrimidines pour les patients porteurs de ce variant et les mutations non délétères, pouvant aussi aboutir à une protéine DPD modifiée, mais sans conséquence sur son activité. Il existe à ce jour plusieurs centaines de SNP du gène *DPYD* décrits dans la littérature.

A cause de son mécanisme autosomique codominant (les deux allèles du gène de la *DPYD* vont s'exprimer), la présence de variant à l'état hétérozygote ou homozygote du gène *DPYD* est importante. Un patient possédant un variant délétère du gène *DPYD* à l'état homozygote aura ainsi une activité DPD proche de 0 et donc un risque important de toxicité sévère ou de décès suite à une exposition à une fluoropyrimidine. Un patient possédant un seul variant délétère du gène *DPYD* donc à l'état hétérozygote aura une protéine qui restera au moins en partie fonctionnelle, avec un risque moins important mais néanmoins existant de toxicité sévère ou de décès suite à une exposition à une fluoropyrimidine.

La technique privilégiée pour étudier l'ADN et mettre en évidence un ou des variants rares est le séquençage.

Cette technique nécessite en général peu de sang périphérique (10 ml) prélevé sur tube EDTA. Le séquençage se fait au moyen d'une « polymerase chain reaction » (PCR) qui est une technique de répliation ciblée, in vitro et automatisée de l'ADN. Cette dernière permet d'obtenir d'importantes quantité d'ADN à partir d'un échantillon peu abondant via une succession de réactions et de répliations d'une matrice d'ADN double brin. La deuxième étape consiste alors au séquençage à proprement parler pour mettre en évidence une mutation ponctuelle sur l'ADN prélevé. Dans le cas du

dépistage des variants du gène *DPYD*, on peut rechercher un variant ou plusieurs variants déjà connus en parallèle, en ne séquençant qu'une petite partie du gène.

D'autres techniques utilisant un séquençage haut débit permettent d'étudier la totalité du gène *DPYD*. En général les 23 exons sont séquencés, en incluant les régions introniques adjacentes. Dans le cas du séquençage complet du gène *DPYD*, la recherche de mutations introniques dites « profondes » n'est pour le moment pas ou peu réalisée.

b. Évolution de la découverte des variants

La découverte du premier polymorphisme du gène *DYPD* en lien avec des toxicités sévères après fluoropyrimidine a été rapportée par Vreken et al. en 1996 chez deux patients Hollandais et correspond au variant *DPYD* *2A (63). D'autres variants suite à des cas de cas de toxicités sévères aux fluoropyrimidines ont été mis ensuite en évidence, par analyse à posteriori du gène *DPYD* des patients en question (64).

Après avoir identifiés un certain nombre de variants sur ces rapports de cas, des études de plus large ampleur ont été réalisées sur des populations ayant reçu des fluoropyrimidines, en recherchant de manière rétrospective ou parfois prospective une association entre des variants connus de *DPYD* et des toxicités graves (grade 3 ou 4) voir létales (grade 5). Certaines études, bien moins nombreuses, ont validé de manière prospective le caractère délétère de certains de ces variants en réalisant des adaptations de dose préalable chez les patients les présentant. Pour ces études, les toxicités sévères étaient comparées à celles retrouvées dans des groupes contrôles de patients contrôle (ne présentant pas ces variants), et chez des cohortes historiques de patients présentant ces variants retrouvés dans la littérature et dont les doses de fluoropyrimidines n'avaient donc pas pu être adaptées au préalable(65).

A ce jour, toutes ces études ont permis de valider avec un bon niveau de preuve la classification d'un certain nombre de variants de la manière suivante (66):

- Deux variants communs n'ont pas de conséquences délétères sur l'activité DPD : c.1627A>G et c.85T>C.
- Deux autres variants réduisent modérément la fonction de la DPD à l'état hétérozygote : c.2846A>T et c.[1236G>A ;1129–5923C>G].
- Deux derniers variants altèrent en profondeur l'activité DPD à l'état hétérozygote : c.1905 + 1G>A et c.1679T>G.

Finalement, l'analyse de bases de données sur le génome de plusieurs milliers de patients originaires de différentes populations a permis de mettre en évidence plusieurs centaines de variant du gène *DPYD* supplémentaires. Néanmoins pour une grande majorité de ces variants, il n'existe aucune donnée clinique sur leur lien avec les toxicités graves aux fluoropyrimidines. Néanmoins, la mesure d'activité *in vivo* et l'estimation de leur conséquences *in silico* a permis de les classer comme potentiellement délétères ou non. Offer et ses collègues ont mené en ce sens deux études importantes en 2013 et 2014 et ont mis en en évidence plusieurs variants délétères *in vitro* afin d'orienter les cliniciens, en l'absence de données *in vivo*, face à un patient présentant un tel variant (67) (68). Finalement, en s'appuyant sur les connaissances sur la structure de la protéine DPD et sur les données des conséquences *in vitro* des variants déjà connus, Shrestha et al. ont récemment monté la validité d'un modèle prédictif de mesure d'activité DPD de variants du gène *DPYD* réalisé *in silico* : le « *DPYD-Varifier* » (69). Ainsi, l'auteur a pu estimer à partir de ce modèle informatique, les conséquences de 295 variants nouvellement identifiés du gène *DPYD*. Ce dernier retrouve pour 89 de ces variants une diminution d'activité de

la DPD. L'étude des variants *in vitro* et *in silico* n'a par contre pour le moment pas abouti à des recommandations d'adaptations de doses en pratique clinique dans les différents référentiels s'intéressant au sujet. Il existe à ce jour de nombreux autres modèles informatiques estimant les conséquences des variants du gène *DPYD*.

Au total, depuis le premier variant *DPYD* mis en évidence en 1996, plus de 450 autres variants du gène ont été mis en évidence, avec une évolution exponentielle du nombre de variants découverts avec le temps. Parmi ces 450 variants, plus de 140 d'entre eux seraient potentiellement délétères sur les fonctions de l'enzyme DPD.

Sur la page suivante, les deux frises chronologiques montrent le parallèle entre l'évolution de l'utilisation des fluoropyrimidines dans différentes localisations carcinologiques et l'évolution des connaissances sur le déficit en DPD sur le plan phénotypique et génotypique.

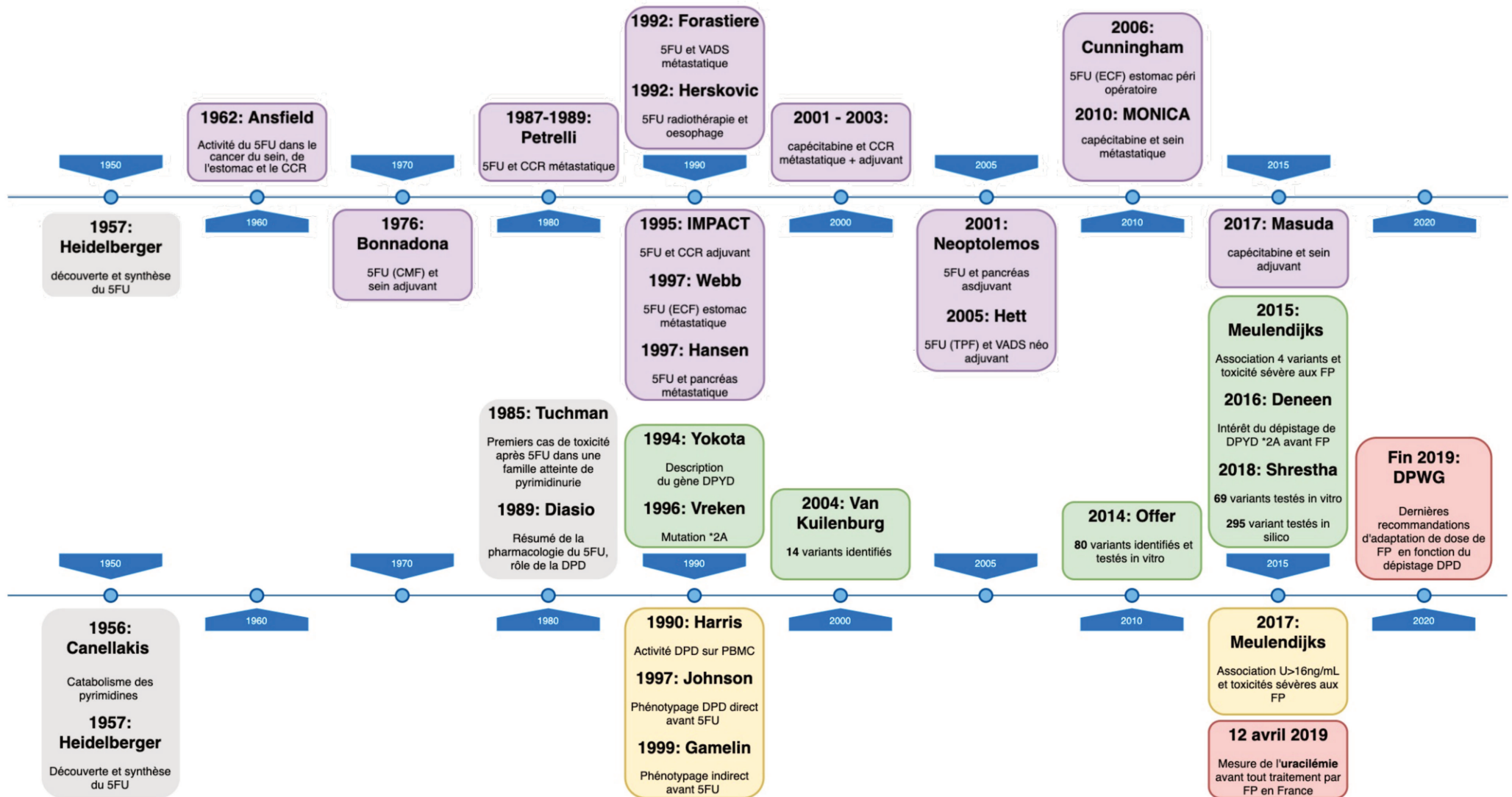


Figure 11 : Parallèle chronologique entre l'utilisation du 5-FU en oncologie et les connaissances sur le déficit en DPD. Gris : travaux fondamentaux, violet : essais cliniques, vert : travaux sur le génotypage *DPYD*, jaune : travaux sur le phénotypage DPD, rouge : recommandations.

c. Variants délétères

Mutation c.1905+1G>A (ou rs3918290 ou IVS14+1G>A) ou **haplotype *2A**. Elle correspond à la substitution d'une guanine par une adénine au niveau du site d'épissage du gène situé sur l'exon 14. Cette substitution aboutit ainsi à une délétion de 165 paires de bases et une protéine DPD tronquée, non fonctionnelle (63). Dès lors, les sujets homozygotes avec un haplotype *2A/*2A ont une activité DPD nulle et ont un risque de toxicité grave et de décès toxique après exposition aux fluoropyrimidines (70). L'association entre toxicité de grade 3 et 4 après fluoropyrimidine et le variant *DPYD* *2A à l'état hétérozygote a été démontré dans plusieurs études (71) (72). L'intérêt d'une diminution de dose initiale significative, de 50% pour les patients mutés hétérozygotes *DPYD* *2A a pu être démontré en 2016 dans un essai prospectif par Deenen et al. (73).

Mutation c. 1679T>G (ou rs55886062 ou I560S). Cette mutation correspond à l'haplotype ***DPYD**13**. Ce variant, moins fréquent dans la population caucasienne que le variant *DPYD* *2A, correspond à une substitution au niveau de l'exon 13 du gène aboutissant au remplacement d'une isoleucine par une sérine en position 560 de la protéine. Les conséquences précises sur la fonction de la DPD ne sont pas bien décrites mais le lien avec une activité DPD diminué *in vitro* a été démontré, avec une protéine à 75% non fonctionnelle (67). Plus récemment, l'association entre les patients porteurs hétérozygotes de cet allèle et des toxicité graves après fluoropyrimidine a été mis en évidence (19). La mise en évidence de cette mutation à l'état hétérozygote nécessiterait une diminution de dose de fluoropyrimidine de l'ordre de 50% mais cela n'a pas été démontré de manière prospective comme pour *DPYD* *2A (66).

Mutation c.2846A>T (ou rs67376798 ou D949V). Cette mutation n'a pas d'haplotype référencé correspondant. Il s'agit d'une mutation mise en évidence en 2000 par van Kuilenburg (50), située au niveau de l'exon 22 du gène *DPYD* et à l'origine de la substitution d'aspartate pour une valine en position 949 de la protéine. Les conséquences structurelles sur la protéine interfèrent avec une partie de son activité, notamment sur sa liaison avec certains cofacteurs (74). Les conséquences in vitro sur l'activité DPD sont une réduction d'activité estimée à 41%. De la même manière l'association entre ce variant à l'état hétérozygote et les toxicités graves après fluoropyrimidines a été démontrée dans la littérature (72). La mise en évidence de cette mutation à l'état hétérozygote nécessiterait une diminution de dose de fluoropyrimidine de l'ordre de 25%, sans que cela ne soit validé de manière prospective.

Haplotype HapB3 : Il s'agit d'un haplotype particulier, combinant 5 polymorphismes habituellement génétiquement liés, 4 sont situés dans des introns : c.1129-5923C>G (rs75017182), c.483+18 G>A (rs56276561), c.680+139 G>A (rs6668296) et c.959-51 T>C (rs115349832) et un dans un exon : c.1236G>A (ou rs56038477 ou E412E). C'est le variant c.1129-5923C>G, se situant dans l'intron 10, qui aboutit à un épissage dysfonctionnel de l'ARN messager. Une association entre des patients porteurs hétérozygotes de cet haplotype et les toxicités graves après fluoropyrimidines a été retrouvée dans certains articles (19).

Néanmoins il existe des données contradictoires sur ce variant, plusieurs études n'ayant pas pu retrouver d'association entre ce dernier et les toxicités graves après fluoropyrimidines, dont entre autre une étude menée sur une population de 1953 patients traités pour un cancer du côlon en situation adjuvante (59) (75). Cet haplotype

n'est pas étudié *in vitro* mais il a été retrouvé une activité DPD sur PBMC diminuée chez les patients présentant ce variant (74). Ce dernier est par contre relativement plus fréquent que les 3 autres dans la population caucasienne, comme résumé plus bas (tableau 9). La mise en évidence de cette mutation à l'état hétérozygote nécessiterait une diminution de dose de fluoropyrimidine de l'ordre de 25% sans que cela n'ait été validé de manière prospective.

Il existe de nombreux autres variants délétères décrits dans la littérature, mais principalement avec des arguments d'analyse *in vitro* ou *in silico*, sans avoir à ce jour de preuve clinique de leur association avec des toxicités graves après fluoropyrimidines.

d. Variants non délétères

Mutation c.1627A>G (I543V ou rs1801159), correspondant à l'haplotype **DPYD*5**. Il s'agit d'une mutation sur l'exon 13. Du fait de leur similitude, le remplacement de l'isoleucine pour une valine n'a que peu d'impact sur le fonctionnement de la protéine.

Mutation c.85T>C (C29R ou rs1801265) correspond à l'haplotype **DPYD*9A**. Il s'agit d'une mutation sur l'exon 2.

Ces deux mutations n'ont pas montré d'association significative avec les toxicités aux fluoropyrimidine de grade 3 et 4 dans plusieurs essais cliniques de grande ampleur (76). L'activité DPD *in vitro*, étudiée par Offer et al. n'est pas diminuée pour c.1627A>G et est même augmentée de 13% pour c.85T>C (67). Cette dernière observation corrobore les hypothèses de certains émettant l'hypothèse d'un effet protecteur de c.85T>C sur les toxicités au 5-FU (77).

La mutation c.1601G>A (haplotype **DPYD*4**, ou rs1801158 ou p.S534N) n'a pas été associée aux toxicités de grade 3 et 4 après fluoropyrimidines dans une méta-analyse de Meulendijks et al. avec un RR de 1,52 (IC 95% 0,86 – 2,70). Ce variant était retrouvé chez 182 patients à l'état hétérozygote (4,7% de la population étudiée) et chez deux patients à l'état homozygotes (0,1%) sur un total de 3900 patients réunissant 5 études différentes (19). Ce variant n'est néanmoins pas encore décrit comme un variant non délétère dans les dernières recommandations (66).

De nombreuses autres mutations non délétères ont été mises en évidence dans la littérature, mais leur caractère bénin repose sur des arguments d'analyses d'activité DPD *in vitro* et *in silico* et n'a pas été validé dans des essais cliniques.

e. Variants aux conséquences discutées

Il existe certains variants de *DPYD* dont le caractère délétère ou non est discuté, avec des résultats discordants dans la littérature. L'incidence faible des variants délétères du gène *DPYD*, le caractère rétrospectif de beaucoup d'études sur le sujet, l'hétérogénéité des populations et des protocoles de chimiothérapie utilisées sont des obstacles importants pour répondre à la question des conséquences d'un variants donné de *DPYD* sur la tolérance aux fluoropyrimidines. Des méta-analyses comme celle de Meulendijks ont permis d'avoir suffisamment de puissance pour retrouver une association entre certains variants dont le caractère délétère n'était pas retrouvé significativement, comme pour l'haplotype HapB3 (19). Dans ce contexte, l'étude des conséquences *in vitro* et *in silico* des variants non étudiées dans les essais cliniques pourrait sembler une solution. Mais cette technique a ses limites, comme le montre l'exemple de l'haplotype *DYPD* *6. En effet la mutation c.2194G>A (ou rs1801160 ou

p.V732I) a montré comme conséquences *in vitro* une activité DPD strictement normale dans l'étude de Offer et al. de 2013 (67). Or dans plusieurs essais cliniques de taille conséquente, le variant *DPYD**6 est associé significativement à une toxicité après fluoropyrimidines (78) (79) (80).

I.2.D Phénotypage DPD

a. Principe du phénotypage DPD

L'étude du phénotype présente plusieurs avantages sur le génotype pour mieux cerner le catabolisme du 5-FU. Théoriquement, elle permet de s'abroger de l'étude des variants du gène *DPYD*, d'autant plus que le nombre de variants est très important pour ce gène. Le phénotypage permettrait aussi d'éviter l'étude des systèmes de régulation du gène *DPYD* au niveau transcriptionnel et post transcriptionnel. En effet certains sont déjà décrits dans la littérature, comme miR-27a et miR-27b et d'autres sont probablement encore à découvrir.

Parmi les techniques de phénotypage de DPD, il existe des techniques directes et des techniques indirectes, dont l'objectif est de refléter le mieux possible l'activité de l'enzyme DPD chez un individu.

La mesure de l'uracile et du ratio dihydrouracile (le substrat endogène de l'enzyme DPD) sur uracile, qui sont des méthodes indirectes, se sont avérées être des techniques de choix pour la pratique clinique en comparaison aux autres techniques proposées et notamment par la mesure de l'activité DPD sur les PBMC (méthode directe). La mesure du ratio UH2/U a été proposée dès 1997 par une équipe française (81) et la preuve de la corrélation de ce ratio avec les paramètres pharmacocinétiques du 5-FU et les effets secondaires après 5-FU a été apportée deux ans après (49).

L'avantage de cette technique réside principalement dans sa faisabilité, car elle nécessite un simple appareillage de chromatographie en phase liquide, disponible dans un grand nombre de laboratoire d'analyse en ville comme à l'hôpital.

La recherche d'uracile et de dihydrouracile dans le sang se fait en effet par technique de chromatographie liquide de type HPLC (high performance liquid chromatography), qui permet la séparation des constituants d'un mélange. Ce système est couplé à un détecteur permettant l'identification et la quantification des constituants séparés. Dans la chromatographie avec détection UV, une phase stationnaire (colonne) est parcourue par une phase mobile qui entraine le mélange à analyser. Les composés que l'on veut analyser sont alors retenus à des vitesses différentes, ce qui permet de les séparer. Le détecteur, associé à un enregistreur placé à la sortie de la colonne, permet d'obtenir un chromatogramme avec une information qualitative en fonction du temps de rétention de chaque soluté et une information quantitative en fonction de l'amplitude de chaque pic correspondant à un soluté particulier.

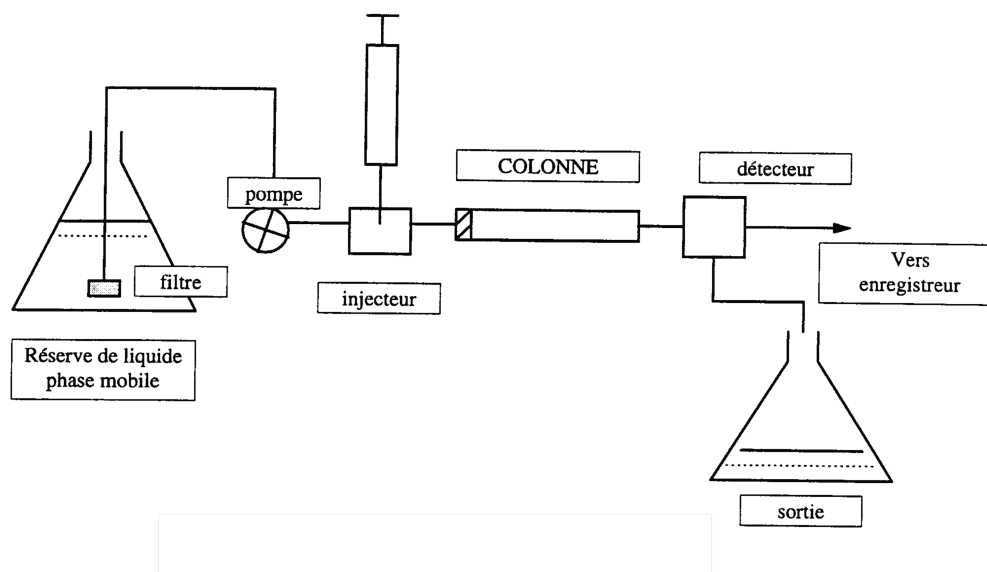


Figure 12 : schéma illustrant le principe de l'HPLC. Source : <http://www4.ac-nancy-metz.fr>

La méthode d'HPLC utilisée pour mesurer le rapport UH2/U permet donc de détecter de manière qualitative et quantitative l'uracile et le dihydrouracile dans du plasma centrifugé et préparé de manière adéquate. La détection de l'uracile et dihydrouracile par chromatographie est faite soit par spectrophotométrie UV, la technique la plus couramment utilisée en France, soit par spectrométrie de masse. Cette dernière technique est utilisée dans certains laboratoires français et donnerait des résultats plus fiables que la technique de détection par UV (82).

Dans les deux cas, l'HPLC couplée à une technique de détection est considérée comme une technique utilisable en pratique clinique, reproductible et fiable. Elle nécessite néanmoins des conditions pré analytiques très strictes : centrifugation immédiate de l'échantillon à 4°C, décantation puis congélation du plasma jusqu'à analyse. En effet Remaud et al. ont montré que la concentration d'uracile augmente rapidement après prélèvement, à 4°C comme à température ambiante, faussant donc le ratio UH2/U. Par contre, l'uracile tout comme le dihydrouracile restent stables à -20°C (83).

b. Rapport UH2/U

Ce ratio est le rapport du dihydrouracile retrouvé dans le sang et exprimé en ng/mL (ou ug/L) sur l'uracile retrouvé dans le sang en ng/mL.

Dès les premières descriptions de la méthode, Gamelin et al. démontrent une corrélation significative entre le ratio UH2/U, les niveaux plasmatiques de 5FU ($r = 0,58$) ainsi que la clairance plasmatique du 5FU ($r = 0,639$) (49).

Dans l'étude de Boisdrion Celle et al. en 2007 effectuée chez 252 patients traités par un protocole contenant du 5-FU, l'auteur retrouve une valeur moyenne de ce rapport

à 7,6 +/- 2,7 [0.002–17.3] avec une médiane à 7,3. L'étude retrouvait une corrélation significative entre le ratio et la toxicité après 5-FU, avec un seuil pour toxicité sévère à 6, basée sur une courbe ROC (84).

Au total, très peu d'études ont montré une corrélation significative entre le ratio UH2/U et les toxicités sévères après fluoropyrimidines, et ces dernières ont été menés sur de faibles effectifs. Dans d'autres études, comme celle de Grimaldi menée chez 205 patientes ayant bénéficié d'un phénotype DPD, il n'a par contre pas été démontré d'association entre le ratio UH2/U et les toxicités sévères de grade 3 et 4 après les deux premiers cycles de traitement par fluoropyrimidine, mais cette étude n'était pas désignée initialement pour répondre à cette question. La moyenne du ratio UH2/U était de 11.1 et la médiane de 10,6 (Q1-Q3 8.2–12.9, échelle de 0.1–36) (76).

Plusieurs études ont aussi démontré de manière prospective le bénéfice de l'adaptation de dose de 5-FU avant traitement chez les patients ayant un rapport UH2/U anormal. Launay et al. ont par exemple étudié chez 218 patients atteint de cancer des VADS, l'intérêt de l'adaptation de dose de 5-FU après mesure du ratio UH2/U (85). L'auteur ne retrouve en effet pas de différence significative pour les toxicités sévères précoces (après 2 premiers cycles) entre le groupe EM et le groupe PM ayant bénéficié d'une adaptation de dose de 5-FU antérieure. Dans cette étude, la valeur moyenne ou médiane du ratio UH2/U n'était pas disponible.

Du fait du manque d'études robuste et des différences importantes de valeurs seuils proposées par les équipes s'intéressant au sujet, il n'y a pas de valeurs retenues collégialement à ce jour permettant, sur la base d'un ratio UH2/U, de définir un patient métaboliseur normal (EM), ou métaboliseur lent (PM) avec une proposition d'adaptation de dose en fonction des valeurs de ce ratio.

Le rationnel pour mesurer le ratio UH2/U plutôt que l'uracilémie afin d'identifier le mieux un patient déficitaire DPD est le suivant : mesurer le substrat d'une enzyme ainsi que son catabolite semble plus informatif que de mesurer seulement son substrat. De plus, plusieurs études ont montré une variation circadienne de la concentration d'uracile sanguine. Une étude a aussi mis en évidence l'influence significative de l'apport alimentaire sur l'uracilémie, en mettant en évidence une diminution de l'uracilémie entre 8h et 13h plus prononcée après prise d'un bol alimentaire matinal qu'en période de jeûne (86).

c. Uracilémie

Elle est exprimée en ng/mL.

La valeur d'uracilémie est associée aux toxicités graves après fluoropyrimidine dans plusieurs études :

- Dans une première étude de Meulendjiks en 2016, 507 patients ont pu être testés par dosage de l'uracilémie avant administration de 5-FU. L'auteur a pu montrer une corrélation significative entre l'augmentation de l'uracilémie par palier de 10 ng/mL et le risque de toxicité de grade 3 4 et 5 précoces après administration de 5-FU, avec un Odds Ratio à 2,41 (IC95% 1,31 – 4,44) (87). La valeur moyenne et médiane d'uracilémie dans cette étude n'a pas été rapportée et il n'a pas été proposé de seuil d'uracilémie au-dessus duquel le risque de toxicité sévère devient significatif.
- Dans l'étude déjà citée, Boisdrion Celle et al. retrouve une corrélation entre la toxicité après 5-FU et la concentration d'uracile chez 236 patients testés, avec une concentration d'uracile moyenne augmentant progressivement avec les

grades de toxicité. Le seuil de toxicité d'uracilémie déterminé par une courbe ROC est estimé à 15 ng/mL dans cette étude (84).

Certaines études tendent vers une préférence pour l'utilisation de l'uracilémie par rapport au ratio UH2/U comme test prédictif des toxicités après 5-FU. Meulendjiks et al. montre par exemple dans une étude post hoc sur 550 patients, une meilleure corrélation entre l'uracilémie et l'activité DPD sur les PBMC, en comparaison au ratio UH2/U. Il apparait aussi dans cette étude que l'uracilémie permettrait mieux de prédire les toxicités sévères au 5-FU que le rapport UH2/U, après ajustement sur les co-variables âge, sexe, et protocoles de chimiothérapie (88).

Dans cette étude, il est retrouvé qu'une concentration d'uracile élevée (>16 ng/mL) est fortement associée avec des toxicités sévères liées aux fluoropyrimidine avec un OR à 5,3 (P= 0,0087) ainsi qu'avec les toxicités fatales liées aux fluoropyrimidine avec un OR à 44,8 (P= 0,0011). Les auteurs concluent ainsi à un risque de toxicité cliniquement significatif chez des patients présentant une uracilémie > 16 ng/mL mais aussi possiblement pour des patients avec une uracilémie entre 13,9 et 16 ng/mL.

De plus, une étude de Van Kuilenburg, retrouve elle aussi une corrélation entre l'activité DPD mesurée sur PBMC et l'uracilémie chez 100 volontaires sains, mais ne retrouve pas cette association avec le rapport UH2/U (42).

Par contre, dans une autre étude déjà citée de Grimaldi, 205 patientes, traités pour une majorité par capécitabine en monothérapie ont été suivies. Dans cette cohorte, les concentrations d'uracilémie avant traitement n'étaient pas significativement différentes chez les patients ayant présentés une toxicité de grade 3 et 4 par rapport à ceux n'en ayant pas présenté, mais cette étude n'était pas réalisée pour répondre à cette question et il s'agissait d'un faible effectif (76). Par contre, les patients présentant une uracilémie > 16 ng/mL étaient à risque significatif de développer une toxicité de

grade 4 en comparaison aux patients avec une uracilémie < 16 ng/mL (RR 20,6, p = 0,21).

Un argument rationnel pour utiliser l'uracilémie contrairement au ratio UH2/U est l'hypothèse que l'enzyme DHP, qui réalise la deuxième étape du métabolisme des fluoropyrimidines, est saturable à concentration physiologique. La concentration d'UH2 représenterait plutôt le fonctionnement de la DHP et ainsi le ratio UH2/U ne serait donc pas un bon reflet de l'activité de la DPD (88).

d. Autres méthodes de phénotypage

Une hypothèse émise à la suite des résultats de Grimaldi et al. déjà cités, qui ne retrouve pas d'associations entre toxicités de grade 3 et 4 après fluoropyrimidine et le dosage d'uracilémie ou ratio UH2/U, est que à l'état physiologique, les concentrations d'uracilémie ne suffisent pas pour saturer l'enzyme DPD (76). Ainsi, seulement un déficit en DPD marqué aurait un impact sur les concentrations physiologiques d'uracile et de dihydrouracile.

Ces observations ont poussé certaines équipes à proposer d'autres méthodes de dépistage du déficit en DPD. Le test idéal serait un test simple, peu coûteux, à la fois sensible et spécifique et avec un délai de rendu raisonnable.

- Calcul de l'activité DPD sur PBMC :

Il s'agit d'une des premières méthodes proposées pour dépister les patients à risque de toxicité après fluoropyrimidine. L'activité est exprimée en pmol de 5-FUH2/min/mg de protéine.

La méthode simplifiée a été décrite en 1997 par Johnson mais le principe de détection radio-enzymatique existait déjà depuis le début des années 1990 (62). Le principe consiste à isoler après centrifugation les PBMC du plasma. On réalise ensuite un

mélange entre les PBMC et du 5-FU marqué au Carbone 14 ($6\text{-}^{14}\text{C}$ FUra) en suivant le principe de l'HPLC. Une détection radioisotopique permet de détecter le fluorouracile et de dihydrofluorouracile marqués au Carbone 14. Cette méthode a comme avantage d'être un test phénotypique direct pour la recherche de patients avec une activité DPD déficitaire et est décrit par les auteurs comme rapide, sensible, et semi-automatique.

La principale barrière à l'utilisation à grande échelle est la difficulté de mise en place du test qui nécessite un équipement adapté, avec un substrat radioactif. De plus, cette analyse nécessite une quantité importante de sang, entre 30 et 60 mL contre 5mL pour une méthode indirecte par mesure de l'uracilémie et du ratio UH2/U. Il existe aussi une variabilité importante d'activité de DPD interindividuelle mais aussi intra individuelle, sans seuil robuste identifié dans la littérature permettant d'identifier des patients à risque de toxicité grave après fluoropyrimidine. Enfin, la mesure de l'activité DPD sur PBMC pourrait ne pas refléter l'activité globale DPD d'un individu, l'activité enzymatique se faisant principalement au niveau du tissu hépatique.

- Fibroblastes :

L'activité DPD a aussi été mesurée sur fibroblastes, isolés sur sang périphérique, en utilisant la même méthode par radioisotope que celle citée plus haut avec les PBMC. L'activité DPD peut aussi être mesurée sur monocytes, lymphocytes, polynucléaires et plaquettes (89).

- Dose test d'uracile :

Van Staveren et al. ont étudié l'évaluation de l'activité DPD indirecte en dosant l'uracile et de dihydrouracile chez des patients ayant ingéré une dose charge d'uracile diluée dans de l'eau. Chez les patients considérés déficitaires suite à une mesure d'activité

DPD sur PBMC, la pharmacocinétique de l'uracile était significativement différente comparée aux patients considérés comme non déficitaires (90).

- Test respiratoire

Un test respiratoire proposé par Mattison et al. en 2004 propose de dépister les patients par une ingestion d'une solution aqueuse de 2-¹³C-uracile (6 mg/kg) puis de mesurer les concentrations de ¹³CO₂ expirées en utilisant un appareil de spectrophotométrie, avec une excellente corroboration avec la mesure de l'activité DPD pour les PBMC (91).

- Test salivaire :

Enfin, Antunes et al. ont proposé très récemment une technique de mesure des concentrations d'uracile et de dihydrouracile dans la salive séchée en utilisant la chromatographie liquide couplée à un appareil de spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). L'avantage de cette technique est que le rapport UH₂/U semble stable à 45°C jusqu'à 9 jours (92) (93).

Ces tests ont pour le moment surtout été utilisés chez des proportions relativement faibles de volontaires sains et nécessitent une validation plus robuste à travers des essais cliniques pour pouvoir être envisagés en pratique clinique dans le dépistage du déficit en DPD. Une technique prometteuse pourrait être l'utilisation d'une dose charge d'uracile mais cette dernière représente une contrainte importante pour le patient, nécessitant pour le moment des prises de sang répétées dans le temps à la suite de l'injection de la dose de charge.

I.2.E Épidémiologie du déficit en DPD

a. Incidence, VPP, VPN, sensibilité et spécificité des dépistages

Le tableau ci-dessous résume les valeurs prédictives positives (VPP), valeurs prédictives négatives (VPN), sensibilité et spécificité des principaux tests de dépistages proposés pour le dépistage des toxicités de grade 3 4 et 5 sous fluoropyrimidine :

| Élément dépisté | Incidence (Hétérozygotes) | Sensibilité (%) | Spécificité (%) | VPP (%) | VPN (%) | Source |
|---|---------------------------|-----------------|-----------------|---------|---------|-------------------------|
| Variant *2A | 1,62% (57 / 3499) | 5,2 | > 99 | | | Terrazino et al. (72) |
| Variant *13 | 0,20% (11 / 5616) | 0,3 | | 46 | | Meulendijks et al. (19) |
| Variant c.2846A>T | 1,47 % (34 / 2 308) | 5,4 | > 99 | | | Terrazino et al. (72) |
| Variant HapB3 | 4,08% (174 / 4261) | 6,4 | | 41 | | Meulendijks et al. (19) |
| Association *2A + *13 + c.2846A>T | | 12 | 99 | 61 | 86 | Toffoli et al. (94) |
| Association *13 + c.2846A>T + HapB3 | | 6 | 95 | 13 | 88 | Meulendijks et al. (88) |
| Uracilémie > 13,9 ng/mL | 6,18% (34 / 550) | 18 | 95 | 35 | 90 | Meulendijks et al. (88) |
| Uracilémie > 13,9 + *13 +c.2846A>T +HapB3 | | 22 | 91 | 24 | 90 | Meulendijks et al. (88) |

Tableau 9 : caractéristiques des différents tests de dépistage du déficit en DPD.

Sur ce tableau, on peut constater la très faible sensibilité des différentes approches, phénotypiques comme génotypiques. Par contre, plus on combine les tests plus la sensibilité semble augmenter. Il semble aussi qu'ajouter au test la recherche de l'haplotype HapB3 augmente la sensibilité mais au détriment de la VPP.

Dans ce tableau, nous n'avons pas inclus le rapport UH2/U ni la mesure de l'activité sur PBMC car nous n'avons pas trouvé d'articles étudiant les paramètres nous intéressant pour ces deux tests.

Grimadi et al. s'est aussi intéressé au calcul de ces paramètres dans une étude sur plus de 200 patients traitées principalement par capécitabine en monothérapie. Dans cet essai, on peut souligner que, quel que soit le test, la sensibilité est meilleure pour dépister les toxicités de grade 4 en comparaison aux toxicités de grade 3 et 4 (76). Ce résultat est à relativiser au vu du faible nombre d'évènements de toxicité de grade 4 (2,1% des patients) et au fait que 37% des patientes étaient déjà prétraités par fluoropyrimidine.

b. Importance de l'ethnie

La plupart des études que nous avons présentées s'intéressent à des populations d'origine caucasienne. Il n'est pas retrouvé dans la littérature la même fréquence des polymorphisme génétiques du gène *DPYD* en fonction de l'origine ethnique de la population étudiée.

L'article de Shrestha et al s'intéresse à de très larges populations grâce aux données génétiques contenues dans plusieurs bases de données dont le « *1000 genome project* ». Cette base de données a été réalisée entre 2008 et 2015 et contient les informations génétiques de 2504 individus, provenant de 26 populations différentes. A partir des données de cette étude, on voit que les haplotypes *2A, *13 et la mutation

c.2846A>T ont une prévalence plus importante chez les populations Européennes et Européennes Américaines, et sont beaucoup moins présentes dans les populations d'Asie de l'Est (69). Un article de Offer retrouve les mêmes prévalences très faibles de ces mutations dans une population d'origine africaine (68).

I.2.F Recommandations sur le déficit en DPD

a. Évolution des recommandations en France

Il existe plusieurs étapes clefs en France qui ont permis d'aboutir en pratique au dépistage de masse des patients avant la primo prescription de fluoropyrimidine :

- La publication en 2016 des Recommandations du groupe GPCO-Unicancer et du RNPGx, qui proposent alors déjà de dépister tout patient avant la mise en route d'un traitement par 5-FU ou capécitabine (annexe 1). Cette analyse peut se faire soit par phénotypage (rapport UH2/U) soit par génotypage (recherche de 3 variants *2A *13 et c.2846A>T), avec des recommandations d'adaptation de dose en fonction des résultats. Une proposition de ré-augmentation progressive de la dose est préconisée pour les phénotypes partiellement déficitaires en fonction de la tolérance initiale à la chimiothérapie. Ces recommandations soulignent le faible coût de la technique à l'époque : 110 euros pour le génotypage 3 variants (BHN 410) et de 40 euros pour le phénotypage (BHN 150). Finalement, ces recommandations annoncent la mise en place d'un programme de recherche national appelé FUSAFE financé par l'INCA (PHRC de 2014) et coordonné par le GPCO-Unicancer et le RNPGx visant à répondre aux questions sur les stratégies de dépistage. Ce projet

mentionne 25 études avec plus de 10 000 patients, les résultats n'ont pas encore été publiés officiellement à ce jour. Un abstract présentant une partie des résultats a néanmoins été présenté au congrès de l'ESMO en septembre 2019 (95).

- La publication dans le Bulletin du Cancer en avril 2018 d'une mise au point des recommandations précédemment citées, en proposant un dépistage combiné avec un phénotypage par uracilémie (+/- ratio UH2/U) et génotypage 4 variants (2A, *13, p.D949V et HapB3). Outre des recommandations plus précises sur les adaptations de dose en fonction du phénotype ou du génotype, les auteurs soulignent l'absence de recommandations nationales ou internationales validant une stratégie de dépistage du déficit en DPD. L'article cite les 17 laboratoires hospitaliers réalisant en routine la recherche de déficit en DPD. Finalement, il est précisé les modalités de remboursement du laboratoire pour ces tests, facturés à l'établissement demandeur selon le BHN, ce dernier pouvant réaliser une demande de remboursement MERRI (96).
- La publication en décembre 2018 d'un rapport officiel d'une centaine de page de l'INCa et de la HAS afin de proposer des recommandations d'experts, à partir d'une analyse critique de la littérature. Ce rapport propose finalement la réalisation d'une uracilémie seule comme test de dépistage du déficit en DPD avant prescription de fluoropyrimidine, en reconnaissant toutes les limites de ce test. Pour les auteurs, l'uracilémie entre 16 et 150 ng/mL est évocatrice d'un déficit partiel et l'uracilémie supérieure à 150 ng/mL est évocatrice d'un déficit complet (107).
- La publication de la note d'information du 12 avril 2019 de la direction générale de la santé, soulignant que la délivrance et l'administration d'une

fluoropyrimidine sont subordonnés par le résultat de la recherche d'un déficit en DPD par mesure de l'uracilémie (annexe 2).

- La publication au journal officiel le 31 août 2019 de l'inscription de l'uracilémie à la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (acte 0500 – B120).

De plus, la mention de la contre-indication en cas de déficit en DPD est mentionnée sur la RCP EMA de la capécitabine depuis juillet 2017. Le TNCD mentionne aussi depuis sa mise à jour en 05/03/2020 l'uracilémie comme test pré thérapeutique avant fluoropyrimidine (accord d'expert) et propose en option un génotypage DPD devant une uracilémie anormale (accord d'expert).

b. Recommandations hors France

Il n'existe pas à notre connaissance de recommandations internationales de société savantes préconisant la réalisation d'un dépistage en DPD systématique avant fluoropyrimidines. Dans les recommandations de l'ESMO de 2016 sur la prise en charge du cancer du côlon, le dépistage DPD avant fluoropyrimidine est une option mais n'est pas recommandé en routine (niveau recommandation II, D) (97). Plusieurs lettres peuvent être trouvées dans la littérature proposant une modification de cette recommandation (98), sans changement à ce jour. Aux États-Unis, le dépistage DPD n'apparaît pas dans les recommandations de prise en charge sur le cancer du côlon du National Comprehensive Cancer Network (NCCN) (99). La contre-indication en cas de déficit DPD apparaît sur l'information de prescription FDA du 5-FU et de la capécitabine mais le test n'apparaît pas comme obligatoire avant prescription de fluoropyrimidine.

Il existe par contre plusieurs recommandations de dépistage en DPD provenant de groupes d'experts en pharmacologie. Le CPIC, un groupe de pharmacogénéticiens américains et européens ont publié une mise à jour de leurs recommandations en 2017, avec des propositions d'adaptation de dose en fonction du génotypage (100). Finalement, le Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) a publié récemment en novembre 2019 une mise à jour de leurs recommandations sur le sujet. Les auteurs proposent un score d'activité génique variant de 0 (absence d'activité DPD) à 2 (activité DPD normale) avec une adaptation de dose en fonction du score. Un intérêt particulier est porté au phénotypage mais celui-ci n'est réalisé qu'en deuxième intention, après génotypage. Les recommandations du DPWG diffèrent de celles du NCCN sur plusieurs points, le DPWG mentionnant par exemple la contre-indication de l'utilisation des fluoropyrimidine systémiques mais aussi par voie cutanée chez les patients déficitaires complet (activité à 0) (66).

II Matériel et méthodes

II.1 Contexte de l'étude :

II.1.A Recommandations sur le dépistage du déficit en DPD

La publication de la mise au point des recommandations du GPCO-Unicancer et du RNPGx disponible en ligne dès février 2018 et publiées dans le volume 105 du bulletin du cancer au mois d'avril 2018 est une étape clef dans les étapes du dépistage du déficit en DPD en France et pour la mise en place de notre étude.

Dans cet article, qui fait l'état des connaissances de la littérature sur le sujet, il est vivement recommandé la réalisation d'un dépistage combinant le phénotypage DPD (uracilémie complétée par le ratio UH2/U) au génotypage des 4 variants *2A, *13, HapB3 et c.2846A>T avant la mise en route d'un traitement par 5FU ou capécitabine. Ces recommandations se distinguent de celles déjà émises en 2016 sur plusieurs points :

- La recommandation du dépistage systématique porte sur tous les patients recevant une primoprescription de fluoropyrimidine et non ceux les plus à risque de présenter une toxicité.
- La mise à disposition des cliniciens réalisant ces analyses d'un outil clair et précis d'adaptation des doses de fluoropyrimidine en fonction des résultats des tests effectués.
- Les auteurs soulignent que les moyens de réaliser ces tests sont bien disponibles en France, et citent les laboratoires d'analyses dédiés et leur répartition sur le territoire. Il est à noter tout de même qu'à l'époque seulement 8 laboratoires sur 17 réalisaient en pratique clinique la mesure de l'uracilémie et du ratio UH2/U.

La mise en pratique de ces recommandations en France et dans les départements du Nord et du Pas-de-Calais, s'est faite progressivement à partir de ces publications. Le pôle de biopathologie du CHRU de Lille (CBP), qui pouvait alors déjà proposer un phénotypage DPD par rapport UH2/U et un génotypage DPD par séquençage complet du gène *DPYD*, s'est donc adapté à cette demande croissante. Quelques semaines après la publication des recommandations de février 2018, le CPB incluait dans les résultats de phénotypage la mesure de l'uracilémie en ng/mL, en plus des résultats du ratio UH2/U. L'annexe 5 présente un exemple de résultat type d'un dépistage combiné

de recherche de déficit en DPD, que le praticien reçoit après en avoir demandé l'analyse.

Or le référentiel HAS-INCa, publié seulement dix mois plus tard en décembre 2018, vient rapidement modifier les recommandations précédemment émises par le RNP Gx. Plusieurs sociétés savantes françaises compétentes en oncologie et en pharmacologie ont été sollicitées afin de réaliser ce référentiel (FFCD, GFCO, GPCO-UNICANCER, RNP Gx, SFCCF, SFPC, SFPO, SFPT, SFSPM, SNFGE) et finalement six oncologues (ou spécialistes d'organes), treize spécialistes ayant une expérience sur la recherche de déficit en DPD (biologistes, pharmaciens, pharmacogénéticiens) et cinq représentants institutionnels (INCa, HAS, ANSM) se sont regroupés pour réaliser ce travail.

Ce rapport insiste tout d'abord sur la nécessité de pouvoir réaliser en masse un test prédictif de toxicités graves aux fluoropyrimidines, en rappelant qu'en moyenne 80 000 patients sont traités par an en France par fluoropyrimidines avec un taux de toxicités de grade 3 et 4 est estimé entre 20 et 25% et un taux de mortalité estimé entre 0,1 et 1%.

Ce référentiel, après une analyse détaillée et critique de la littérature et des connaissances sur le déficit en DPD, recommande une simple mesure de l'uracilémie en guise de dépistage. L'objectif, clairement émis par les auteurs, de dépister en priorité les patients présentant une suspicion de déficit complet de DPD justifie cette « désescalade ». Le seuil d'uracilémie est fixé arbitrairement à 150 ng/mL, sur la base de l'expérience des experts, qui rapportent que les patients ayant présenté une toxicité de grade 4 ou 5 sous fluoropyrimidines et diagnostiqués déficitaires complets présentaient à priori tous des valeurs d'uracilémie très élevés. Le génotypage 4

variants est lui jugé trop peu sensible et apportant une VPP médiocre. A la fin du rapport, les experts ont émis plusieurs perspectives qui sont rapportées ci-dessous :

« Les performances du génotypage (qui présente l'avantage de conditions pré-analytiques et analytiques simples) pourraient être améliorées par l'identification et la validation d'un plus grand nombre de variants *DPYD* cliniquement pertinents, selon plusieurs voies possibles parmi lesquelles :

- La réalisation d'un criblage complet du gène *DPYD*, potentiellement restreint aux patients présentant un résultat de phénotypage anormal, avec exploration fonctionnelle (in silico, in vitro et/ou ex vivo) des variants identifiés ;
- La mise en place d'une base de données clinico-biologique nationale répertoriant, en parallèle des résultats de phénotypage, les nouveaux variants *DPYD* identifiés ainsi que le suivi clinique des patients diagnostiqués comme déficitaires en DPD (traitement prescrit, posologie des fluoropyrimidines, toxicités) »

Notre étude s'est mise en place après la publication des recommandations de décembre 2018, et s'inscrit dans la lignée des perspectives proposées par ce rapport.

II.1.B Le dépistage du déficit en DPD au CHRU de Lille

Peu de temps après les recommandations initiales du RNPGx et du GPCO en avril 2016, le CBP du CHRU de Lille proposait comme dépistage combiné du déficit en DPD un phénotypage avec le ratio UH2/U associée à une technique de séquençage complet du gène *DPYD*, en lieu et place du génotypage 3 ou 4 variant.

Ainsi entre l'été 2017 et l'été 2019, le CHRU de Lille a pu réaliser autour de 3000 génotypages complets du gène *DPYD* associé à un phénotypage.

Avec le génotypage *DPYD* est aussi réalisé un séquençage complet du gène de UGT1A1, donc certains variants sont en lien avec les toxicités d'une autre molécule de chimiothérapie, l'irinotécan. Finalement, le gène *DPYS* est aussi séquencé à la recherche de variants délétères, de manière plus exploratoire.

a. Principe du dépistage combiné avec séquençage complet

L'intérêt du séquençage complet du gène *DPYD* a très peu été étudié dans la littérature. Plusieurs articles se sont intéressés à décrire les incidences des variants retrouvés avec un séquençage complet du gène *DPYD* dans différentes populations, mais sans pouvoir valider ce test comme une technique potentielle de dépistage du déficit en DPD (101).

L'étude de Grimaldi et al. en 2017 est la seule étude, à notre connaissance, analysant l'intérêt d'un génotypage complet de *DPYD* associée à une mesure du phénotypage (uracilémie et ratio UH2/U). Les auteurs proposent dans cette étude une analyse des sensibilités, spécificités, VPP et VPN des différents tests ou combinaisons de test pour dépister les toxicités de grade 3 et 4 après fluoropyrimidines. Cette étude montre que la sensibilité de la technique de dépistage est augmentée en y incluant les variants retrouvés chez les patients testés et considérés comme délétères in vitro (76).

Le rationnel derrière la réalisation d'un dépistage combiné associant le séquençage complet du gène *DPYD* peut se résumer ainsi :

- L'utilisation du génotypage des 4 variants délétères connus pour identifier les patients à risque de toxicité de grade 3 ou 4 après fluoropyrimidine est peu sensible mais assez spécifique.
- Y ajouter l'uracilémie avec un seuil à 16 ng/mL semble augmenter la sensibilité du dépistage.
- Réaliser un séquençage complet du gène *DPYD* permettrait d'identifier les variants potentiellement délétères supplémentaires et ainsi d'augmenter la sensibilité de la technique de dépistage sans conséquences sur sa spécificité.

b. Méthode de séquençage DPYD au CHRU de Lille

La technique de séquençage du gène *DPYD*, associée au séquençage des gènes *DPYS* et *UGT1A1* au CHRU de Lille, nécessite 10 mL de sang prélevés sur 2 tubes EDTA et acheminés à température ambiante.

L'extraction d'ADN est réalisée par un automate CheMagic Star (Hamilton Robotics). La stratégie de séquençage nouvelle génération utilise un système de séquençage à haut débit MiSeq Benchtop Sequencer.

S'agissant d'une analyse génétique, le patient remplit après information éclairée du clinicien ayant demandé l'analyse, une autorisation de recherche et d'utilisation de données génétiques dont un exemplaire figure en annexe 3.

c. Méthode de phénotypage

La méthode de phénotypage DPD au CHRU de Lille suit les prérequis de conditions strictes pré analytiques des échantillons de sang déjà cités, d'autant plus que cette plateforme analyse les demandes de nombreux laboratoires, cliniques et hôpitaux périphériques d'une partie de la région Hauts-de-France.

Le laboratoire de biopathologie du CHRU de Lille demande ainsi, comme spécifié en annexe 4, un prélèvement sanguin sur un tube EDTA de 5mL qui doit alors être rapidement congelé, dans les 30 minutes suivant le prélèvement. La congélation n'est réalisée qu'après une phase de centrifugation à 4°C pendant 10 minutes à 1500 g suivie d'une phase de décantation. La technique d'HPLC utilisée ensuite nécessite au moins 1,5 mL de plasma et est une méthode UPLC-MS/MS (Ultra-High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometric) réalisée avec un appareil validé, Waters Aquity TQD. Cette technique a été proposée et validée en 2012 par Coudoré et al. (82). Il s'agit d'une technique de chromatographie sur phase liquide utilisant un

appareil de spectrométrie de masse en tandem comme outil de détection pour l'uracile et le dihydrouracile. Cette technique possède en théorie une meilleure précision comparée à la chromatographie en phase liquide conventionnelle utilisant une détection UV ainsi qu'une meilleure résolution, une meilleure sensibilité et une durée d'analyse plus courte de 4,5 minutes.

II.2 Objectif de l'étude :

II.2.A Question scientifique :

Dans les suites du rapport INCa-HAS de décembre 2018, de nombreuses questions ont émergé, notamment concernant l'intérêt du génotypage *DPYD* qui était jusque-là un test régulièrement demandé par les oncologues médicaux et spécialistes d'organes et réalisé en routine par de nombreux laboratoires de biologie moléculaire à travers la France.

L'expérience accumulée depuis plusieurs années au CHRU de Lille concernant le séquençage complet du gène *DPYD* nous a semblé pouvoir être le socle d'un travail évaluant cette technique, en recueillant rétrospectivement les données de toxicité après fluoropyrimidine chez les patients testés.

Ce recueil de données a un double objectif.

- Le premier est de décrire et éventuellement d'évaluer statistiquement l'intérêt clinique du dépistage du déficit en DPD réalisé au CBP de Lille au moyen de données de toxicité et de réduction ultérieure de dose de chimiothérapie.
- Le second est de réaliser une analyse des pratiques cliniques dans plusieurs centres d'oncologie de la région Hauts-de-France en recueillant, chez une

population peu sélectionnée de patients débutant une chimiothérapie par fluoropyrimidines, les données des tests pré thérapeutiques réalisés, des protocoles de chimiothérapies utilisés et de leurs toxicités précoces hématologique et extra hématologiques.

La question scientifique fait directement écho aux perspectives émises par le rapport INCa-HAS de décembre 2018 sur le dépistage du déficit en DPD. Il s'agit d'apporter de manière rétrospective une base de validité clinique au dépistage combiné utilisant le séquençage complet *DPYD*, qui pourrait être éventuellement propice à la mise en place d'une validation prospective dans un deuxième temps.

Afin de pouvoir évaluer la technique d'intérêt avec des arguments cliniques, nous avons recueillis les données de toxicité précoces chez nos patients, c'est-à-dire entre le premier et le deuxième cycle de chimiothérapie comportant une fluoropyrimidine, supposés, chez les patients présentant une enzyme DPD déficitaire, d'être plutôt le reflet d'une toxicité du 5-FU ou de la capécitabine.

En prévision d'une population recevant en majorité des protocoles de polychimiothérapies avec une fluoropyrimidine et non de monochimiothérapie par fluoropyrimidine seule et pour nous libérer le mieux possible de ce biais de confusion, nous avons aussi recueilli les modifications de doses spécifiques au 5-FU ou à la capécitabine au deuxième cycle de traitement.

L'incidence des patients déficitaires complet, estimée entre 0,01 et 0,1%, fait que cette étude n'a en aucun cas la prétention d'établir des données sur le déficit complet en DPD, elle s'intéresse surtout à la population déficitaire partielle en DPD, plus fréquente.

II.2.B Description :

Notre étude a cherché à évaluer la recherche de déficit en DPD par phénotypage (uracilémie et rapport U/UH2) et génotypage par séquençage complet du gène *DPYD* réalisée dans les départements du Nord et du Pas-de-Calais.

Il s'agit d'une étude rétrospective multicentrique recueillant les données médicales de patients provenant de six établissements de santé différents : un centre de lutte contre le cancer (CLCC), un centre hospitalier régional universitaire (CHRU) et quatre centres hospitaliers généraux (CH).

Le recueil de données a concerné les patients de ces centres traités pour la première fois par fluoropyrimidine entre le 01/03/2018 et le 28/02/2019.

Le synopsis initial de l'étude est présenté en annexe 6.

II.2.C Objectif principal

L'objectif principal de l'étude est d'évaluer l'utilité clinique de la technique d'intérêt par la proportion de patients nécessitant une réduction secondaire de la dose de 5FU ou capécitabine au deuxième cycle de traitement.

Le critère de jugement principal est donc un critère de jugement composite correspondant aux évènements suivants :

- Réduction de dose de 5FU (sous forme de bolus ou d'infusion) ou de capécitabine au deuxième cycle de traitement
- Ou report de la 2^e cure de 5FU ou de capécitabine secondaire à une toxicité suspectée de ce traitement.

II.2.D Objectifs secondaires

Les objectifs secondaires de notre étude sont multiples.

a. Objectif secondaire de toxicité :

Évaluer l'utilité clinique de la technique d'intérêt par la proportion de patients ayant présenté une toxicité hématologique ou extra hématologique de grade 3, 4 ou 5 entre le premier et le deuxième cycle de traitement.

Les données de toxicité recueillis ont été gradées en utilisant comme référentiel le CTCAE version 5.0.

b. Objectif secondaires épidémiologiques :

- Établir l'incidence des déficits partiels retrouvés dans notre population.
- Établir le taux de discordance entre le phénotype DPD et le génotype *DPYD*.
- Établir l'incidence des toxicités spécifiques du 5-FU en fonction des protocoles utilisés.

c. Analyse des pratiques cliniques :

- Taux de dépistage systématique de la recherche de déficit en DPD.
- Taux de dépistage conforme en fonction des périodes de recommandations.
- Taux de majoration des doses en cas de bonne tolérance du traitement chez les patients étiquetés comme déficitaire ayant bénéficié d'une adaptation de dose au premier cycle de traitement.
- Taux d'adéquation entre les doses recommandées par le dépistage au premier cycle et les doses prescrites.

- Délais entre la prescription du test, sa réalisation, son analyse au laboratoire, le compte rendu des résultats et la première injection de chimiothérapie.
- Motif éventuel de l'absence de dépistage du déficit en DPD.

II.3 Mise en œuvre de l'étude :

II.3.A Mise en place initiale de l'étude

a. Population :

Afin d'avoir une population la plus représentative possible de la pratique clinique et pour avoir un nombre de sujets suffisant, nous avons décidé d'inclure tout patient majeur recevant pour la première fois une chimiothérapie contenant une fluoropyrimidine (5-FU ou capécitabine) sur une année de temps et d'inclure les patients de plusieurs centres dont les recherches de déficit en DPD étaient analysées par le laboratoire de biopathologie du CHRU de Lille.

Les patients devaient avoir reçu leur première perfusion de chimiothérapie contenant une fluoropyrimidine entre le 1^{er} mars 2018 et le 28 février 2019 c'est-à-dire après la publication des recommandations du GPCO-UNICANCER de février 2018.

b. Critères d'inclusion :

Les critères d'inclusion pour notre étude sont les suivants :

- Patient > 18 ans.
- Primo-prescription de fluoropyrimidine (voie intra veineuse ou orale) entre le 1^{er} mars 2018 et le 28 février 2019.

- Ayant reçu au moins une perfusion de chimiothérapie comportant du 5-FU ou ayant débuté un cycle de capécitabine orale.
- Ayant donné son consentement écrit pour la réalisation de la recherche génétique (si réalisée) et sa non opposition à l'utilisation de ses données (tous les patients).

c. Aspects règlementaires :

Sur le plan règlementaire, nous avons réalisé notre étude en accord avec la méthodologie de référence MR-004, encadrant les traitements de données à caractère personnel à des fins d'étude, d'évaluation ou de recherche n'impliquant pas la personne humaine. Il s'agit dans notre cas d'une étude portant sur la réutilisation de données médicales, avec un caractère d'intérêt public et seules les données strictement nécessaires et pertinentes au regard des objectifs de la recherche ont été collectées.

Tous les patients ayant réalisé un génotypage *DPYD* avaient au préalable rempli le formulaire de consentement dédié, décrit en annexe 3 et avaient ainsi donné leur autorisation au stockage et à l'utilisation de ces données génétiques à des visées de recherche.

Aucun des patients inclus dans notre étude n'a émis d'opposition à l'utilisation de ses données médicales à des fins de recherche.

II.3.B Méthodologie de recueil de données rétrospective

a. Centres participants :

L'étude a été réalisée à l'initiative du Centre Oscar Lambret, le centre promoteur notre étude.

Nous avons contacté un clinicien pour chacun des cinq autres centres hospitaliser sélectionnés. Ces centres réalisaient en pratique courante des traitements par chimiothérapie à base de fluoropyrimidine.

Les données des patients dans chaque centre ont été recueillies après contact du clinicien et de l'équipe de recherche clinique locale. Le recueil de données a été réalisé de manière strictement anonyme, directement dans chaque centre.

b. Recherche des patients :

Afin d'inclure les patients ayant reçu une chimiothérapie par 5-FU intra veineux pour la première fois dans l'intervalle de temps voulu, nous avons utilisé les logiciels de prescription de chimiothérapie propre à chaque centre (CHIMIO® de computer-engineering et TIMEWISE® de Canyon Technologies). Pour chaque patient de ces listes, nous avons analysé le dossier médical afin d'exclure les patients ayant reçu une fluoropyrimidine antérieurement, dans un autre centre ou à une date antérieure à l'utilisation du logiciel.

Afin d'inclure les patients ayant reçu une primo prescription de chimiothérapie par capécitabine, nous avons utilisé plusieurs sources pour les identifier dans un des centres de recueil. Le moteur de recherche pour le big data en oncologie ConSoRe (Continum Soins Recherche – Unicancer) a été utilisé (mots clefs « 5-FU » et « xeloda ») ainsi qu'une recherche DIM (radiothérapie et cancer colorectal). Nous

n'avons pas réalisé la même méthodologie pour les autres centres et avons donc inclus pour ces derniers principalement des patients ayant reçu du 5-FU intra veineux. Nous n'avons pas inclus de patients ayant reçu une fluoropyrimidine par autre voie que la voie orale ou intra-veineuse (ex : cutanée, intra artériel hépatique).

c. Données recueillies dans le « case report form » (CRF) :

Les données épidémiologiques recueillies étaient le mois et l'année de naissance, le sexe, l'histologie du cancer traité, le stade du cancer, le protocole de chimiothérapie utilisé, les traitements éventuels associés (immunothérapie et thérapies ciblées).

Les données concernant le dépistage en DPD recueillies étaient la réalisation de ce dépistage quel qu'il soit, la cause en cas de non dépistage, la méthode de dépistage demandée par le clinicien et celle réalisée par le laboratoire, les résultats du génotypage, les résultats du phénotypage (uracilémie et ratio UH2/U), la prise en compte des résultats pour le premier cycle de chimiothérapie, la majoration de dose au deuxième cycle en cas de dose diminuée pour une suspicion de déficit en DPD et de bonne tolérance du premier cycle.

Les données concernant la chimiothérapie au deuxième cycle étaient la réalisation ou non d'un deuxième cycle de chimiothérapie, la cause de l'annulation du 2^e cycle, la réduction de dose de fluoropyrimidine toute cause au deuxième cycle, le détail des causes de réduction de dose : report de cure / réduction ou arrêt du bolus de 5-FU/ réduction ou arrêt de fluoropyrimidine hors bolus de 5-FU. En cas de report, la durée et la cause de ce report étaient recueillis.

Les données des toxicités entre le premier et le deuxième cycle de chimiothérapie ont été recueillies en suivant la méthodologie du CTCAE version 5.0 quand l'information était disponible sur le dossier, avec le recueil des grades de toxicités hématologiques

toute cause, de l'anémie, de la neutropénie, de la thrombopénie, de la mucite, du syndrome main pied, des diarrhées, de la perte de poids, de l'asthénie, des nausées, des vomissements, ainsi que de la neutropénie fébrile et de la colite.

Nous avons recueilli, quand elles étaient disponibles, la date de prescription de la recherche de déficit en DPD, la date de recueil, l'heure de recueil, la date de réception du prélèvement par le CPB de Lille, la date du compte rendu et la date du premier cycle de traitement comportant une fluoropyrimidine.

Enfin, pour une éventuelle étude ancillaire, les données concernant le dépistage génétique DPYS et UGT1A1 ont été recueillies, ainsi que les modifications de dose d'irinotécan réalisées en cas de mutation de UGT1A1.

Les données citées ont été recueillies de manière anonyme, sur un tableur EXCEL, avec un numéro de patient et un numéro de centre identifiant chaque patient.

Les fichiers contenant la correspondance entre l'identité des patients et les numéros ont été conservées dans la base de données de l'établissement de recueil, en coordination avec l'équipe de recherche clinique locale.

II.4 Analyses statistiques :

II.4.A Nombre de sujets nécessaires

S'agissant d'une étude sur données rétrospective, il n'y a pas eu de calcul du nombre de sujets nécessaires avant la mise en route du recueil de données.

Étant donné l'incidence faible des patients suspects de déficit en DPD sur la donnée de leur taux d'uracilémie (taux > 16 ng/mL retrouvé chez 3% à 9% des patients dans la littérature) ainsi que l'incidence faible des patients présentant un variant de *DPYD*

délétère ou suspect d'être délétère à l'état hétérozygote (environ 6% dans la littérature), nous avons statué sur un nombre de patients à inclure entre 300 et 500 afin de pouvoir inclure un nombre suffisant de patients déficitaires en DPD.

II.4.B Détail des analyses statistiques :

Les caractéristiques des patients inclus ainsi que les données relatives aux examens de dépistages et aux traitements seront présentées sous forme de tableaux récapitulatifs. Les variables continues seront résumées par les paramètres classiques de la statistique descriptive (médiane et valeurs extrêmes, moyenne et écart-type si justifié). Les variables catégorielles seront présentées sous forme de tables de contingence (fréquence absolue et pourcentage de chaque modalité), en précisant par ailleurs le nombre de données manquantes.

Pour l'analyse du critère de jugement principal, l'adéquation de la dose initiale de 5-FU, définie par l'absence de réduction de dose à la deuxième séance de chimiothérapie, sera comparée entre les patients dépistés (quelque soit la méthode) et les patients non dépistés à l'aide du test de Fisher. Elle sera également comparée entre les groupes à l'aide d'une régression logistique multivariée qui sera ajustée sur le stade thérapeutique, l'âge, l'utilisation d'une mono/polychimiothérapie et l'utilisation ou non de bolus de 5-FU.

La survenue d'une toxicité hématologique ou extra-hématologique de grade 3, 4 ou 5 sera comparée entre les patients dépistés et les patients non dépistés à l'aide du test de Fisher. Elle sera également comparée entre les groupes à l'aide d'une régression logistique multivariée ajustée sur les variables évoquées précédemment.

L'évolution de la proportion de patients qui bénéficie d'un dépistage, quelle que soit la méthode, sera analysée de mars 2018 à février 2019 par le test de tendance de Cochran–Armitage. Par ailleurs, l'adéquation de la dose initiale de 5-FU et la toxicité du traitement seront analysés dans plusieurs sous-populations de manière descriptive. La variation de l'uracilémie en fonction de l'heure de recueil sera également décrite.

III Résultats

III.1 Caractéristiques des patients :

III.1.A Digramme de flux :

Entre le mois d'avril 2019 et janvier 2020, 597 patients ont été inclus rétrospectivement dans notre étude à partir de 1405 dossiers étudiés. La figure suivante représente le diagramme de flux des patients inclus dans notre étude.

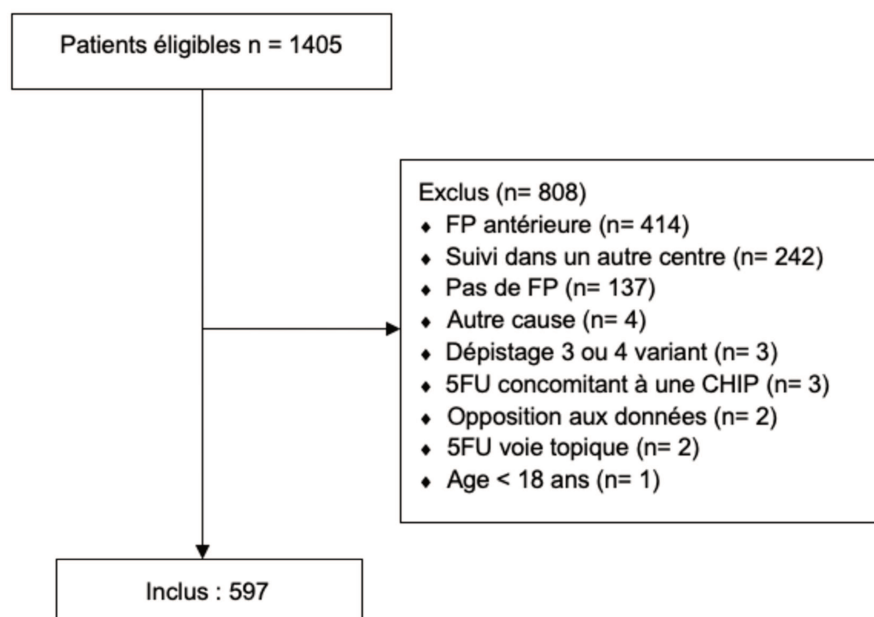


Figure 13 : Flow chart de l'étude

III.1.B Données de population générale :

Le tableau ci-dessous résume les caractéristiques principales des patients inclus. A noter que pour 10 patients, la présence d'un bolus ou non de 5-FU dans le protocole de chimiothérapie n'est pas connue.

| Variable | Effectif (ou moyenne) | Fréquence (ou médiane) |
|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Sexe | | |
| Femme | 233 | 39.0% |
| Homme | 364 | 61.0% |
| Age | 61.7 ans | 63.0 ans [55.0;70.0] |
| Localisation tumorale | | |
| Autres | 18 | 3.0% |
| Bas tractus digestif | 212 | 35.5% |
| Haut tractus digestif | 196 | 32.8% |
| ORL | 116 | 19.4% |
| Sénologie/Gynécologique | 55 | 9.2% |
| Stade | | |
| Curatif | 270 | 45.2% |
| Palliatif | 327 | 54.8% |
| Chimiothérapie | DM = 10 | 1,7% |
| 5-FU en continu | 1 | 0.2% |
| Bolus seul | 26 | 4.4% |
| Capécitabine orale | 72 | 12.3% |
| Diffuseur 5-FU avec bolus | 260 | 44.3% |
| Diffuseur 5-FU sans bolus | 228 | 38.8% |

Tableau 10 : caractéristiques de la population de notre étude (DM = données manquantes).

Au total, notre population se compose en majorité de patients de sexe masculin (61%), avec un âge de 62 ans en médiane. Presque 70% de notre population est représentée par des patients traités pour un cancer du tractus digestif, suivi d'une proportion importante de patients suivi pour un cancer des VADS (19,4%) ainsi que de patientes traitées pour des tumeurs mammaires et gynécologiques (9,2%).

Les patients ont été traités par plus de 31 protocoles de chimiothérapie différents, celui le plus représenté étant le protocole FOLFOX 4 qu'ont reçu 37% des patients (n = 221) puis le FOLFIRINOX pour 13,5% des patients (n = 81) puis le TPF pour 10% des patients (n= 63). Concernant le protocole de chimiothérapie, nous avons proposé des sous-groupes de patients en fonction des types de protocoles d'administration de 5-FU. La majorité des patients n'ont pas reçu d'immunothérapie ou de thérapie ciblée concomitante associée au premier cycle de chimiothérapie (98,7 et 82,7% respectivement). Finalement, la majorité des patients ont été traité par des polychimiothérapies contenant du 5-FU soit 521 patients (87,3%), seulement 76 patients ont été traités par une fluoropyrimidine seule (12,7%).

III.1.C Résultats du dépistage

a. Détail du dépistage des patients pour le déficit en DPD :

Parmi les 597 patients étudiés, un dépistage de déficit en DPD quel qu'il soit a été demandé pour 519 d'entre eux soit 86,9% de la population. 78 patients n'ont donc pas bénéficié de recherche de déficit en DPD dans la période d'intérêt.

Pour la plupart de ces patients (96,2% des patients), il n'était mentionné aucune justification pour expliquer la décision de ne pas réaliser le test de dépistage en question. Chez deux patients, une mauvaise information figurait sur le dossier concernant l'utilisation antérieure de fluoropyrimidine et pour un patient, le clinicien mentionnait bien dans le dossier la décision de ne pas réaliser de dépistage.

Le tableau suivant décrit les tests de dépistage du déficit en DPD demandés par les cliniciens pour les 519 patients dépistés, ainsi que l'analyse réalisée in fine par le laboratoire du CBP de Lille. Parmi les 32 cas où le test demandé n'a finalement pas pu être réalisé par le laboratoire la majorité correspond à un phénotypage qui n'a pas été réalisé (78% des demandes non respectées), principalement à cause de problématiques pré-analytiques.

Au total, nous avons donc pu récupérer les résultats de 475 génotypages par séquençage complet de *DPYD* ainsi que 478 résultats de phénotypage DPD (uracilémie et ratio UH2/U). Par contre, les résultats finaux du test n'étaient pas tous disponibles pour le praticien le jour de l'initiation de la chimiothérapie. Ainsi, la dernière variable du tableau 11 présente les données de tests disponibles le jour du premier cycle de chimiothérapie comportant une fluoropyrimidine.

| Variable | Effectif | Fréquence |
|---|----------|-----------|
| Test demandé | | |
| Dépistage combiné avec séquençage complet | 466 | 89.8% |
| Génotypage seul par séquençage complet | 16 | 3.1% |
| Phénotypage seul par uracilémie et UH2/U | 37 | 7.1% |
| Respect du test demandé | | |
| Non | 32 | 6.2% |
| Oui | 487 | 93.8% |
| Évolution du test | | |
| Dépistage combiné > Génotypage seul | 25 | 4.8% |
| Dépistage combiné > Phénotypage seul | 7 | 1.3% |
| Méthode respectée | 487 | 93.8% |
| Test finalement réalisé | | |
| Dépistage combiné avec séquençage complet | 434 | 83.6% |
| Génotypage seul par séquençage complet | 41 | 7.9% |
| Phénotypage seul par uracilémie et UH2/U | 44 | 8.5% |
| Test pris en compte au premier cycle de chimiothérapie | | |
| Dépistage combiné avec séquençage complet | 366 | 61,3% |
| Génotypage seul par séquençage complet | 33 | 5,5% |
| Phénotypage seul par uracilémie et UH2/U | 73 | 12,2% |
| Pas de dépistage | 125 | 20,9% |

Tableau 11 : Test de dépistage en DPD réalisés parmi les 519 patients chez qui il a été demandé.

b. Résultats des tests de dépistage en DPD

Le tableau suivant indique les indications de réductions de dose suite aux résultats de génotypage *DPYD* pour les 475 patients testés.

| Adaptation de dose en fonction du variant <i>DPYD</i> | Effectif | Fréquence |
|--|----------|-----------|
| Diminution de 25% | 21 | 4.4% |
| Diminution de 50% | 4 | 0.8% |
| Pas de diminution de dose (sauvage et variants non pathogènes) | 424 | 89.3% |
| Proposition de diminution 25-50% | 3 | 0.6% |
| Pas de diminution de dose (variant à priori non pathogène) | 23 | 4.8% |

Tableau 12 : Résultats d'adaptation de dose proposée par le CBP en fonction du génotypage *DPYD*

Parmi les 21 patients nécessitant sur la base du génotype une diminution de dose de fluoropyrimidine initiale de 25%, 20 patients présentaient un haplotype HapB3 et un patient présentait une mutation c.2846A>T à l'état hétérozygote.

Parmi les 4 patients nécessitant sur la base du génotype une diminution de dose de 50% de fluoropyrimidine, trois patients présentaient un variant hétérozygote *2A et un patient présentait un variant hétérozygote *13.

424 patients soit presque 90% de la population testée ne présentaient pas de mutation du gène *DPYD* ou alors présentaient un allèle non délétère fréquent (dans ce cas non révélé sur le compte rendu), ne nécessitant pas d'adaptation de dose.

Dans notre population, nous avons retrouvé 3 patients présentant à l'état hétérozygote des mutations peu étudiées auparavant, avec une mutation (c.557A>G) démontrée comme ayant une activité diminuée *in vitro* et deux mutations (c.1751C>T et c.2180-3T>C) dont l'activité n'ont pas été décrites *in vitro*. Pour ces trois patients il a ainsi été proposé une diminution de dose de l'ordre de 25 à 50% de la dose initiale de

fluoropyrimidine. Chez 23 patients il a été mis en évidence des variants de *DPYD* sans conséquence supposées sur l'activité de la DPD sans pouvoir l'affirmer avec un niveau de preuve suffisant. Parmi ces 23 patients, 19 présentaient des variants à l'état hétérozygote avec une activité estimée normale *in vitro* :

- 15 présentaient l'haplotype *DPYD**4 (mutation c.1601G>A)
- 2 patients présentaient la mutation c.1218G>A
- 1 patient présentait la mutation c.1615G>A
- 1 patient présentait la mutation c.2161G>A

Enfin, un patient présentait la mutation c.2567C>T non étudiée *in vitro*, et trois patients présentaient la mutation c.496A>G, non délétère *in vitro* mais à l'état homozygote. Au total Pour ces 23 patients, le laboratoire proposait de ne pas diminuer les doses mais en soulignant le faible niveau de preuve de cette proposition.

Le tableau suivant indique les résultats de phénotypage DPD pour les 478 patients testés.

| Uracilémie | Effectif | Fréquence |
|---------------------------------------|----------|-----------|
| 16 < Uracilémie < 100 | 19 | 4.0% |
| Uracilémie < 16 | 459 | 96.0% |
| Ratio dihydrouracile / uracile | | |
| 3 < UH2/U < 6 | 5 | 1.0% |
| UH2/U > 6 | 473 | 99.0% |
| Résultat total phénotypage DPD | | |
| Déficitaire | 21 | 4.4% |
| Normal | 457 | 95,6% |

Tableau 13 : Résultats du phénotype DPD réalisés chez 478 patients.

Chez les 467 patients dont nous avons pu récupérer la valeur exacte de l'uracilémie (manquante pour 11 patients), la moyenne était de 7,5 ng/mL et la médiane de 6,5 ng/mL (IC 95% 4,6 – 9,1).

Au total, 21 patients avaient un résultat de phénotypage faisant suspecter un déficit en DPD : uracilémie > 16 ng/mL et/ou ratio UH2/U < 6.

La figure ci-dessous montre l'histogramme de la variable quantitative retrouvée pour l'uracilémie dans notre étude.

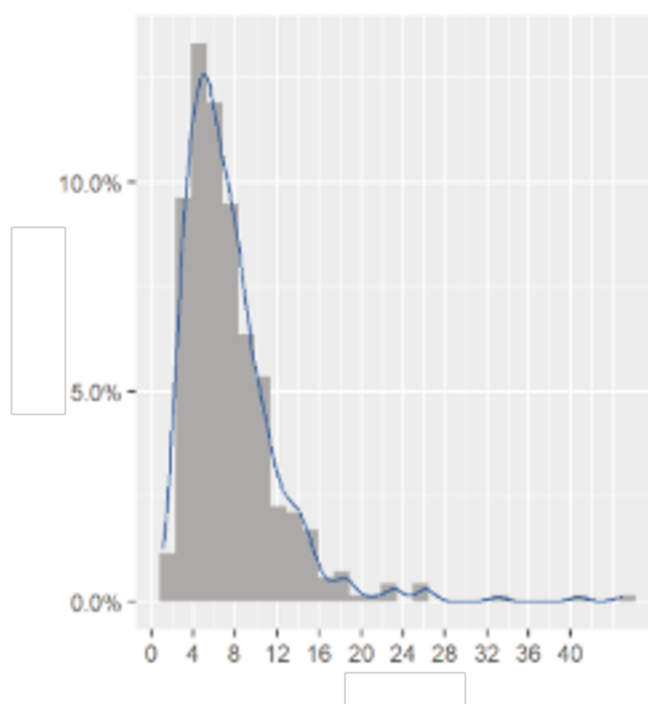


Figure 14 : distribution de l'uracilémie. Abscisse : uracilémie (en ng/mL). Ordonnée : proportion des valeurs d'uracilémies.

Le tableau 14 montre l'effectif total de patients déficitaires dans notre population ainsi que le détail des effectifs pour ces patients. Parmi les 45 patients déficitaires, quatre patients soit 8% de la population avaient un génotype correspondant au phénotype.

| Patients déficitaires | Effectif | Fréquence |
|--------------------------|----------|-----------|
| Non | 474 | 91.3% |
| Oui | 45 | 8.7% |
| Détails de la population | | |
| Génotype | 24 | 4.6% |
| Phénotype | 17 | 3.3% |
| Génotype et Phénotype | 4 | 0.8% |
| Non déficitaire | 474 | 91.3% |

Tableau 14 : Effectif de patients déficitaires en fonction du test proposé chez les 519 patients testés

c. Concordance entre les tests de phénotypage et génotypage.

Un test de concordance a été réalisé pour étudier les deux tests de phénotypage réalisés (uracilémie et rapport UH2/U) à partir du tableau ci-dessous. Le coefficient kappa est mesuré à 0,2373693, soit une concordance faible entre les deux tests.

| Variable | 3 < UH2/U < 6 | UH2/U > 6 |
|-----------------------|---------------|-----------|
| Uracilémie < 16 | 2 | 457 |
| 16 < Uracilémie < 100 | 3 | 16 |

Tableau 15 : répartition des 478 patients analysés en fonction des deux méthodes de phénotypage

Un test de concordance a aussi été réalisé entre l'uracilémie et le génotypage chez les 434 patients ayant bénéficié du test combiné, comme décrit sur le tableau suivant. Le coefficient kappa est mesuré à 0,09550842 soit une concordance très faible entre les deux tests.

| Variable | Pas de mutation | Variant non délétère | Proposition diminution 25-50% | Diminution 25% | Diminution 50% |
|-----------------------|-----------------|----------------------|-------------------------------|----------------|----------------|
| Uracilémie < 16 | 375 | 19 | 3 | 18 | 1 |
| 16 < Uracilémie < 100 | 14 | 1 | 0 | 1 | 2 |

Tableau 16 : répartition des 434 patients analysés en fonction des résultats d'uracilémie et de génotypage *DPYD*.

Finalement, un test de concordance a été réalisé entre les résultats poolés du phénotypage (uracilémie et ratio UH2/U) et le génotypage chez les 434 ayant bénéficié du test combiné, comme décrit sur le tableau suivant. Le coefficient kappa est alors mesuré à 0,1324864 soit là encore une concordance faible entre les deux tests.

| Variable | Pas de mutation | Variant non délétère | Proposition diminution 25-50% | Diminution 25% | Diminution 50% |
|-----------------------|-----------------|----------------------|-------------------------------|----------------|----------------|
| Phénotype Normal | 374 (96.1%) | 19 (95.0%) | 3 (100.0%) | 17 (89.5%) | 1 (33.3%) |
| Phénotype déficitaire | 15 (3.9%) | 1 (5.0%) | 0 (0.0%) | 2 (10.5%) | 2 (66.7%) |

Tableau 17 : répartition des 434 patients analysés en fonction des résultats de phénotypage et de génotypage *DPYD*.

III.1.D Résultats de diminution de dose de fluoropyrimidine et toxicités à C2

a. Mesure du critère de jugement principal

Le tableau suivant fait état des modifications de dose de fluoropyrimidine au deuxième cycle de chimiothérapie (C2) dans la population étudiée, avec les différentes causes. 37 patients n'ont pas bénéficié de 2^e cure de chimiothérapie alors que celle-ci était planifiée. Pour 12 patients la cause était directement due au traitement (effet indésirable pour 10 patients et décès toxique pour 2 patients). Pour 25 patients en revanche, l'annulation du deuxième cycle de chimiothérapie n'était pas expliquée par une toxicité de la chimiothérapie (progression et altération de l'état général pour 13 patients, décès non toxique pour 7 patients, évènement infectieux non lié à la chimiothérapie pour 5 patients). Ces 25 patients ont donc été exclus de l'analyse du critère principal composite.

Les principaux éléments modifiant les doses de fluoropyrimidine au deuxième cycle sont le décalage de cure (15,9% des patients) et les réductions de dose (9,4% des patients). Parmi les patients reportés, la cause majoritaire retrouvée était un effet indésirable de la chimiothérapie pour 54 patients (59,3%), un évènement infectieux pour 19 patients (20,9%). Pour les 18 patients restants (19,8%), la cause du report n'a pas pu être clairement identifiée dans le dossier. Chez les patients dont la dose de fluoropyrimidine a été réduite au deuxième cycle, celle-ci a concerné le bolus de chimiothérapie chez 19 patients (6,6% de la population recevant un bolus) et a concerné la dose de capécitabine ou de diffuseur de 5-FU chez 46 patients (8,1% de la population).

| Variable | Effectif | Fréquence | Population |
|--|----------|-----------|------------|
| C2 réalisée | | | 597 |
| Non | 37 | 6.2% | |
| Oui | 560 | 93.8% | |
| Cause d'annulation de C2 | | | 37 |
| Non lié au traitement | 25 | 67,6% | |
| Lié au traitement | 12 | 32.4% | |
| Diminution de dose de FP à C2 | | | 572 |
| Non | 447 | 78.1% | |
| Oui | 125 | 21.9% | |
| Détail des diminutions de FP à C2 | | | 572 |
| Cure de chimiothérapie non réalisée | 12 | 2.1% | |
| Réduction ou arrêt de FP | 54 | 9,4% | |
| Report de cure | 91 | 15.9% | |
| Pas de modification de FP | 440 | 76.9% | |
| (Dose de FP augmentée) | 7 | 1.2% | |

Tableau 18 : Détail des modifications de dose de fluoropyrimidine à C2 dans la population étudiée.

b. Toxicités entre C1 et C2

Le tableau suivant indique la fréquence des effets secondaires graves entre le 1^{er} et le 2^e cycle de chimiothérapie dans la population étudiée. Les données manquantes pour les variables de toxicité ont été considérées comme une toxicité de grade < 3. Le détail des toxicités tout grade pour toutes les variables recueillies est indiqué en annexe 7.

| Variable | Effectif | Fréquence |
|---|----------|-----------|
| Toxicité grave (grade 3, 4 et 5) | | |
| Non | 515 | 86.3% |
| Oui | 82 | 13.7% |
| Toxicité grave hématologique | | |
| Non | 548 | 91.8% |
| Oui | 49 | 8.2% |
| Toxicité grave extra hématologique | | |
| Non | 556 | 93.1% |
| Oui | 41 | 6.9% |

Tableau 19 : Toxicités graves entre C1 et C2 parmi les 597 patients de l'étude.

III.2 Critère de jugement principal :

III.2.A Analyse principale :

Cinq cent soixante-douze patients étaient donc évaluables pour l'évènement modification de dose de fluoropyrimidine au deuxième cycle. Dans le tableau 20, les patients ont été séparés en 4 groupes en fonction du test de dépistage pris en compte au moment de la première cure de chimiothérapie.

| Variable | Pas de dépistage | Dépistage combiné | Génotypage seul | Phénotypage seul | Observations |
|---------------------------|------------------|-------------------|-----------------|------------------|--------------|
| Modification de dose à C2 | | | | | 572 |
| Non | 95 (79,8%) | 277 (78.9%) | 26 (81.2%) | 49 (70,0%) | |
| Oui | 24 (20,2%) | 74 (21.1%) | 6 (18,8%) | 21 (30,0%) | |

Tableau 20 : Modification de dose de FP à C2 pour les 572 patients évalués en fonction des tests de dépistages

Un test de Fisher a été réalisé, comparant le groupe de patients dépistés pour le déficit en DPD (quel que soit le test) et les patients non dépistés. L'odds ratio pour la modification de dose de chimiothérapie par fluoropyrimidine est calculé à 1,14 (IC 95% 0,68 – 1,96) $p=0,7087$. Il n'y a donc pas de différence significative de modification de chimiothérapie à la deuxième cure entre les groupes de patients dépistés pour un déficit en DPD et le groupe non dépisté.

Nous avons aussi comparé la relation entre la survenue d'une modification de dose au deuxième cycle de chimiothérapie et les différents types de dépistages DPD réalisés, en ajustant sur le stade thérapeutique, l'âge, l'utilisation d'une mono-chimiothérapie ou d'une poly-chimiothérapie et l'utilisation ou non de bolus de 5-FU à l'aide d'une régression logistique multivariée. Dans cette analyse, seule l'utilisation d'une poly-chimiothérapie était significativement associée à une modification de dose de chimiothérapie par fluoropyrimidine au deuxième cycle en comparaison à la mono-chimiothérapie, avec un ORR à 2,729 (IC 95% 1,315 – 6,421) $p= 0,012$.

| Variable | Modification de FP à C2 |
|---|--|
| Stade palliatif vs curatif | OR = 1,039 [0,688-1,573] p= 0,857 |
| Age | OR = 1.010 [0,992-1,029] P=0.302 |
| Utilisation d'une polychimiothérapie versus monochimiothérapie | OR = 2,729 [1,315-6,421] p= 0,012 |
| Utilisation d'une FP en bolus | OR = 0,812 [0,532-1,236] p= 0,332 |
| Utilisation d'un dépistage combiné versus pas de test | OR= 1,009 [0,603-1,732] p=0,973 |
| Utilisation d'un dépistage génotypique seul versus pas de test | OR = 0,965 [0,326 – 2,327] p= 0,944 |
| Utilisation d'un dépistage phénotypique seul versus pas de test | OR = 1,613 [0,803 – 3,222] p=0,176 |

Tableau 21 : Régression multivariée de modification de dose à C2 en fonction des variables : stade, age, chimiothérapie, utilisation de bolus de 5-FU et de la méthode de dépistage.

III.2.B Analyse de sous-groupes :

Nous avons réalisé une analyse du critère de jugement principal sur la sous population de patients déficitaires (sur le génotypage et/ou le phénotypage).

Parmi la population d'intérêt, 2 patients ont été exclus de l'analyse principale pour les raisons déjà citées. Parmi les 43 patients restants, 9 n'étaient pas dépistés au moment du premier cycle de chimiothérapie et n'avaient donc pas d'adaptation préalable de dose pour ce motif. 34 patients par contre avaient eu une dose au premier cycle adaptée au résultat de dépistage et donc une diminution préalable de dose de fluoropyrimidine.

| Variable | Non dépisté à C1 | Dépistés à C1 | Observations |
|----------------------------------|------------------|---------------|--------------|
| Modification de dose à C2 | | | 43 |
| Non | 7 (77,8%) | 31 (91,2%) | |
| Oui | 2 (22,2%) | 3 (8,8%) | |

Tableau 22 : effectifs chez les patients déficitaires pour l'évènement modification de dose à C2

Nous n'avons pas réalisé d'analyse statistiques sur ce sous-groupe devant le nombre trop faible d'évènements. Dans le groupe de patients déficitaires non dépistés, 22,2% de la population ont eu une modification de dose au deuxième cycle alors que dans le groupe de patients déficitaires avec dose adaptée 8,8% des patients ont eu une modification de dose au deuxième cycle.

III.3 Critères de jugements secondaires :

III.3.A Analyse de toxicités :

Pour l'analyse de toxicité, les données des 597 patients inclus dans notre essai ont été pris en compte. Les analyses statistiques ont été réalisées en n'incluant que les patients présentant une toxicité de grade 3 ou supérieure.

a. Toxicité sévère en fonction des méthodes de dépistage

Ce tableau présente la répartition des toxicités sévères (grade 3 4 et 5), hématologiques et extra hématologiques entre la première et la deuxième cure de chimiothérapie dans notre population en fonction des groupes de dépistage de déficit en DPD.

| Variable | Pas de dépistage | Dépistage combiné | Génotypage seul | Phénotypage seul |
|-------------------------------------|------------------|-------------------|-----------------|------------------|
| Toxicité de grade 3-4 5 | | | | |
| Non | 107 | 314 (85.8%) | 29 (87.9%) | 565 (89%) |
| Oui | 18 (14.4%) | 52 (14.2%) | 4 (12.1%) | 8 (11%) |
| Toxicité hématologique | | | | |
| Non | 111 | 339 (92.6%) | 31 (93.9%) | 67 (91.8%) |
| Oui | 14 (11.2%) | 27 (7.4%) | 2 (6.1%) | 6 (8.2%) |
| Toxicité extra hématologique | | | | |
| Non | 119 | 337 (92.1%) | 31 (93.9%) | 69 (94.5%) |
| Oui | 6 (4.8%) | 29 (7.9%) | 2 (6.1%) | 4 (5.5%) |

Tableau 23 : répartition des toxicités sévères parmi les 597 patients étudiés.

Un test de Fisher a été réalisé, comparant le groupe de patients dépistés pour le déficit en DPD (quel que soit le test) et les patients non dépistés. L'odds ratio pour la toxicité sévère totale est calculé à 0,93 (IC 95% 0,52 – 1,75) $p = 0,7721$. Il n'y a donc pas de différence significative de toxicité sévère entre la première et la deuxième cure entre les groupes de patients dépistés pour un déficit en DPD et le groupe non dépisté.

Nous avons aussi réalisé une analyse de toxicités pour la sous population de patients déficitaires (sur le génotype et/ou le phénotype). Parmi les 45 patients étudiés, 10 n'étaient pas dépistés au moment du premier cycle et n'avaient donc pas d'adaptation préalable de dose pour ce motif. 35 patients par contre avaient eu une dose adaptée au résultat de dépistage au premier cycle et donc une diminution préalable de dose de fluoropyrimidine.

| Variable | Dépistés à C1 | Non dépistés à C1 | Population déficitaire non | Observations |
|--------------------------------|---------------|-------------------|----------------------------|--------------|
| Toxicité de grade 3-4 5 | | | | N=519 |
| Non | 33 (94.3%) | 8 (80.0%) | 410 (86.5%) | |
| Oui | 2 (5,7%) | 2 (20,0%) | 64 (13.5%) | |

Tableau 24 : Effectifs pour l'évènement toxicité grade 3 4 et 5 pour la population de patients déficitaire DPD et pour les 519 patients dont le statut DPD est connu.

20% des patients dont le test n'était pas disponible au premier cycle ont développé une toxicité sévère entre le premier et le deuxième cycle de chimiothérapie alors que seulement 5,7% des patients dont le résultat du test était disponible au premier cycle ont présenté une toxicité grave entre les deux premiers cycles de chimiothérapie. Devant le faible nombre d'évènements le test de Fisher n'a pas été réalisé pour ce sous-groupe de patients.

b. Toxicité en fonction des chimiothérapies

Notre étude prévoyait comme objectifs secondaires, d'étudier les toxicités des chimiothérapies en fonction des doses de 5-FU. Dans une première analyse, nous avons comparé les toxicités graves totales, hématologiques et non hématologiques pour la population en fonction du protocole de chimiothérapie en comparant un groupe de patients sous fluoropyrimidine en mono chimiothérapie versus un groupe de patients sous fluoropyrimidine en poly chimiothérapie. `

| Variable | Mono-chimiothérapie | Poly-chimiothérapie |
|-------------------------------------|---------------------|---------------------|
| Toxicité de grade 3 4 5 | | |
| Non | 69 (90.8%) | 446 (85.6%) |
| Oui | 7 (9.2%) | 75 (14.4%) |
| Toxicité hématologique | | |
| Non | 71 (93.4%) | 477 (91.6%) |
| Oui | 5 (6.6%) | 44 (8.4%) |
| Toxicité extra hématologique | | |
| Non | 75 (98.7%) | 481 (92.3%) |
| Oui | 1 (1.3%) | 40 (7.7%) |

Tableau 25 : Effectif des toxicités sévères en fonction du protocole de chimiothérapie pour les 597 patients analysés.

Un test de Fisher a été réalisé, comparant le groupe de patients traités par mono-chimiothérapie et le groupe de patients traités par poly-chimiothérapie. L'odds ratio pour la toxicité sévère extra hématologique est calculé à 6,23 (IC 95% 1,02– 255) $p=0,048$. Les toxicités sévères extra hématologiques sont donc significativement plus fréquentes pour le groupe de patients sous poly-chimiothérapie en comparaison au groupe de patients sous mono-chimiothérapie. Nous n'avons par contre pas pu montrer de résultat similaire en comparant l'incidence des toxicités sévères totales et les toxicités hématologiques dans les deux groupes.

Nous nous sommes aussi intéressés à l'analyse des toxicités graves entre le premier et le deuxième cycle de chimiothérapie en fonction de l'ajout d'un bolus de chimiothérapie.

| Variable | Diffuseur 5-FU sans bolus | Diffuseur 5-FU avec bolus |
|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Toxicité de grade 3 4 5 | | |
| Non | 193 (84.6%) | 231 (88.8%) |
| Oui | 35 (15.4%) | 29 (11.2%) |

Tableau 26 : Effectif des toxicités sévères en fonction de l'ajout d'un bolus au diffuseur de chimiothérapie chez les 480 patients analysables.

Le test de Fisher ne montrait pas de différence entre le groupe de 5-FU avec bolus en comparaison au groupe sans bolus de 5-FU pour les toxicités sévères entre le premier et le deuxième cycle de chimiothérapie, odds ratio à 0,69 (IC 95% 0,39 – 1,21) p = 0,181.

III.3.B Analyse des pratiques cliniques :

a. Recommandations de dépistage

Le taux de dépistage systématique de la recherche de déficit en DPD dans notre population est de 86,9%. 78 patients n'ont donc pas été dépistés systématiquement dans notre population (13%). Si l'on regarde le taux de dépistage disponibles au moment de la réalisation du premier cycle de chimiothérapie, le nombre de patients non dépistés monte à 125 patients soit 20,9% de la population non dépistée.

Concernant les périodes de recommandations de dépistage, 499 patients ont reçu leur première chimiothérapie contenant du 5-FU entre mars et décembre 2018 et 98 patients entre janvier et février 2019. Pour les 499 patients ayant réalisé leur

chimiothérapie en 2018, 381 patients (76,4%) ont bénéficié d'un dépistage selon les recommandations en vigueur (dépistage combinant phénotype et génotype). Pour les 98 patients traités en 2019, 93 patients (94,9%) ont bénéficié d'un dépistage selon les recommandations en vigueur (dépistage contenant au moins une uracilémie).

La figure ci-dessous montre l'évolution des méthodes de dépistage en fonction du temps avec en abscisse les mois de la période de recueil et en ordonnée la proportion de patients. Le test de dépendance de Cochran–Armitage réalisé à partir de ce graphique montre ainsi une évolution significative des pratiques de dépistage en fonction du temps ($p = 0,00000000003673$).

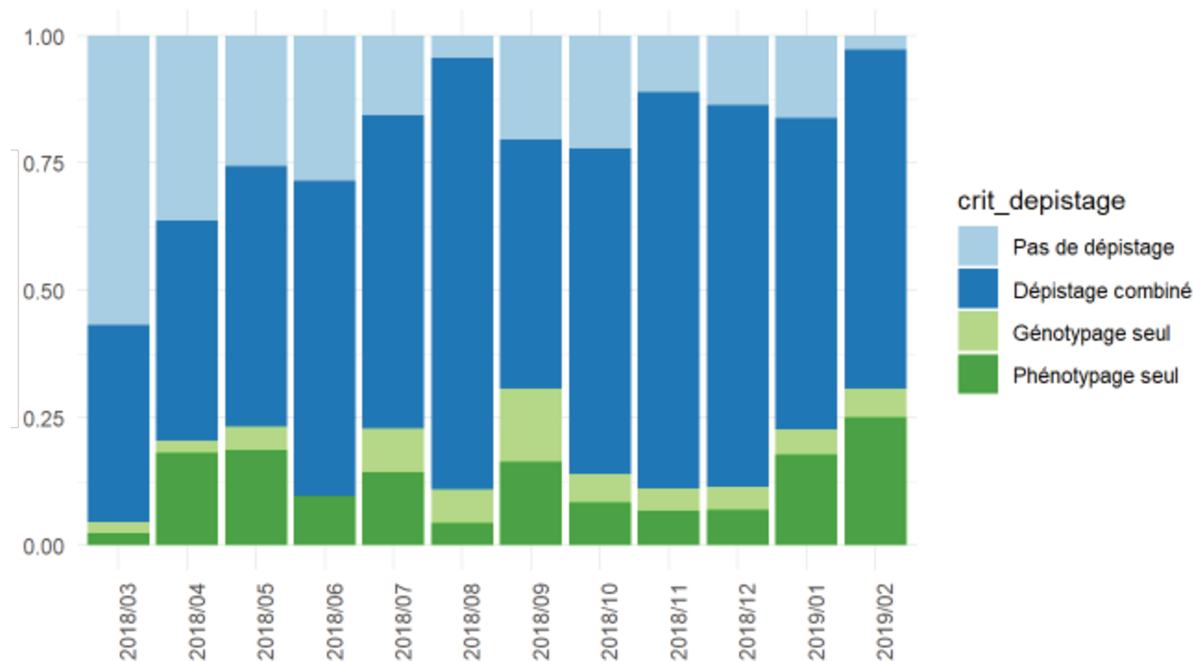


Figure 15 : évolution du dépistage du déficit en DPD en fonction de la période d'étude

b. Délais d'analyse

Chez les patients pour lesquels les données étaient disponibles, nous avons analysé les délais entre la prescription du test et la réalisation du premier cycle de chimiothérapie, en fonction du test réalisé par le laboratoire.

Les trois tableaux suivants montrent pour chaque type d'analyse les paramètres entre la prescription et le compte rendu de l'analyse ainsi que le délai entre le compte rendu et la première cure de chimiothérapie (exprimés en jours).

| Variable | Moyenne | Écart type | Médiane | Min | Max |
|---|---------|------------|---------|-----|-----|
| Délai entre prescription et compte rendu | 12,41 | 4,17 | 12 | 6 | 32 |
| Délai entre compte rendu et premier cycle de chimiothérapie | 12,37 | 24,33 | 8 | -33 | 350 |

Tableau 27 : délais (en jours) pour le dépistage de déficit en DPD combiné.

| Variable | Moyenne | Écart type | Médiane | Min | Max |
|---|---------|------------|---------|-----|-----|
| Délai entre prescription et compte rendu | 11,20 | 3,62 | 11 | 7 | 29 |
| Délai entre compte rendu et premier cycle de chimiothérapie | 7,27 | 11,33 | 6 | -21 | 27 |

Tableau 28 : délais (en jours) pour le dépistage de déficit en DPD par génotypage seul.

| Variable | Moyenne | Écart type | Médiane | Min | Max |
|---|---------|------------|---------|-----|-----|
| Délai entre prescription et compte rendu | 8,82 | 4,34 | 8,5 | 2 | 27 |
| Délai entre compte rendu et premier cycle de chimiothérapie | 12,80 | 13,16 | 9,5 | -10 | 63 |

Tableau 29 : délais pour le dépistage de déficit en DPD par phénotypage seul.

La figure suivante permet d'apprécier les délais entre la prescription du test de dépistage par le clinicien et le compte rendu de l'analyse.

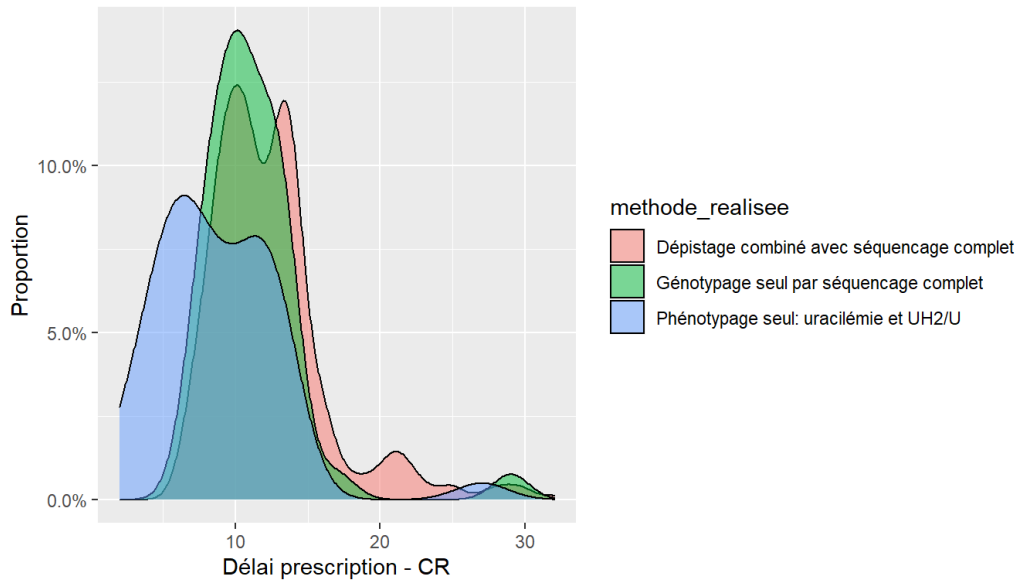


Figure 16 : délais entre prescription et compte rendu pour les différentes méthodes de dépistage.

c. Respect des propositions d'adaptation de dose.

Chez les patients dépistés avant le premier cycle de chimiothérapie, l'adéquation entre les doses proposées par le laboratoire et la dose prescrite est de 99,2%. En effet un seul patient n'a pas eu de diminution de dose de chimiothérapie initiale alors que cela était proposé par le compte rendu du test, disponible avant le premier cycle. Il s'agissait d'un patient double hétérozygote $c.557A>G$ et $c.3067C>A$, sans uracilémie augmentée et pour lequel la dose de chimiothérapie aurait dû être baissée de 25%.

Par contre, chez 124 patients la dose de chimiothérapie n'était pas en adéquation avec les recommandations car 78 d'entre eux n'étaient pas dépistés pour le déficit en DPD et 46 n'avaient pas de résultats de test au moment du premier cycle de chimiothérapie. Parmi les 35 patients déficitaires ayant bénéficié d'une diminution de dose de chimiothérapie en adéquation avec les recommandations du test de dépistage, 7

(20%) ont vu leurs doses de chimiothérapie être majorées au deuxième cycle devant une bonne tolérance clinique et biologique. Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques de la population dont la dose a été ré-augmentée.

| Nombre de patients | Génotypage DPD | Phénotypage DPD |
|--------------------|---------------------------|--|
| 3 | Pas de mutation délétère | Uracilémie anormale (2), ratio anormal (1) |
| 2 | Haplotype HapB3 | Normal |
| 1 | Haplotype <i>DPYD</i> *13 | Normal |
| 1 | Mutation c.2846A>T | Uracilémie normale mais ratio anormal |

Tableau 30 : Résultats de génotypage et de phénotypage pour les 7 patients dont la dose a été majorée à C2.

III.3.C Analyse supplémentaires :

a. Déficit en DPYS.

Chez les 475 patients ayant bénéficié d'un dépistage du déficit en DPD comprenant un génotypage *DPYD*, un séquençage du gène *DPYS* a aussi été réalisé. Parmi ces 475 patients, aucun variant supposé délétère n'a été mis en évidence.

b. Déficit en UGT1A1.

Chez les 475 patients ayant bénéficié d'un dépistage du déficit en DPD comprenant un génotypage *DPYD*, un séquençage du gène *UGT1A1* a été réalisé, en plus du séquençage *DPYS*. Pour 40 patients soit 8,4% de la population testée, un variant délétère a été mis en évidence.

Il s'agissait du variant *28 à l'état homozygote pour 38 patients et du variant *36 à l'état homozygote pour un patient. Chez le dernier patient, un variant rare a été mis en évidence (c.1220delA).

Parmi les 40 patients, sept seulement ont été traités avec un protocole contenant de l'irinotécan. Les doses d'irinotécan correspondaient à des doses faibles ou intermédiaires (150 à 180 mg/m²) et l'irinotécan a été administré avec un protocole de poly-chimiothérapie (type FOLFIRINOX ou FOLFIRI). Chez cinq patients sur sept, la dose d'irinotécan a été diminuée dès le premier cycle de chimiothérapie, de 30%. Parmi les cinq patients un seul a vu sa dose d'irinotécan secondairement ré-augmentée au deuxième cycle devant une bonne tolérance. Chez deux patients la dose n'a pas été modifiée devant les résultats du génotypage.

c. Résultats d'uracilémie en fonction de l'heure de recueil.

Nous avons pu recueillir l'heure du recueil de l'uracilémie chez 409 patients de notre étude parmi les 467 patients dont nous disposons de la valeur exacte de l'uracilémie en ng/mL. Ces deux données nous ont permis d'étudier les paramètres d'uracilémie en fonction de l'heure de recueil, présentées sur le tableau ci-dessous.

| Variable | Moyenne | Écart type | Médiane | Minimum | Maximum | N |
|----------|---------|------------|---------|---------|---------|-----|
| 0-8h | 8,65 | 5,65 | 7,10 | 2,5 | 23,1 | 17 |
| 8-10h | 7,86 | 4,36 | 6,85 | 2,2 | 26,0 | 50 |
| 10-14h | 7,99 | 5,36 | 6,90 | 1,7 | 45,0 | 171 |
| 14-17h | 6,90 | 4,67 | 5,80 | 1,1 | 33,0 | 135 |
| 17-24h | 5,51 | 2,77 | 5,05 | 2,0 | 14,6 | 36 |

Tableau 31 : résultats d'uracilémie en ng/mL en fonction de l'heure de recueil.

d. Résultats de toxicité en fonction de la valeur d'uracilémie

Il s'agit d'une analyse supplémentaire non prévue initialement dans le synopsis de notre étude.

Nous nous sommes intéressés aux données de toxicité chez les patients présentant une uracilémie entre 12 et 16 ng/mL, en comparaison aux patients présentant une uracilémie inférieure à 12 ng/mL.

Pour cette analyse, nous avons exclu les patients présentant une uracilémie normale < 16 ng/mL mais avec un génotypage déficitaire si ce dernier avait été réalisé.

Nous avons ainsi identifié 379 patients présentant une uracilémie < 12 ng/mL et 37 patients présentant une uracilémie entre 12 et 16 ng/mL.

Le tableau suivant montre les effectifs de patients ayant présenté une toxicité de grade 3, 4 et 5 dans les deux groupes.

| Variable | Uracilémie < 12 ng/mL | Uracilémie entre 12 et 16 ng/mL |
|-------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| Toxicité de grade 3 4 5 | | |
| Non | 333 (87,9%) | 34 (91,9%) |
| Oui | 46 (12,1%) | 3 (8,1%) |

Tableau 32 : effectif de patients présentant une toxicité sévère en fonction de l'uracilémie.

Un test de Fisher a été réalisé pour comparer ces deux populations et ne retrouve pas de différence significative pour le critère toxicité grave entre le premier et le deuxième cycle de chimiothérapie avec un odds ratio à 0,64 (IC 95% 0,12 – 2,16), $p = 0,6003$

IV Discussion

Dans notre étude, nous avons pu analyser les modifications de doses de fluoropyrimidines ainsi que les toxicités précoces chimio-induites dans une cohorte de 597 patients suivis dans 6 centres d'oncologie du Nord de la France et inclus sur une période d'un an.

Notre étude est unique car il n'existe pas à notre connaissance d'autre analyse de cohorte de patients ayant bénéficié d'une adaptation de dose de fluoropyrimidine suite à un séquençage complet du gène *DPYD*.

IV.1 Résultats de notre étude :

IV.1.A. Description de la population :

Nous nous sommes attachés à comparer notre population à celle d'autres essais publiés sur le sujet tels que ceux décrits dans la méta analyse de Meulendijks (19). Cette méta analyse utilise les données cumulées de 8 essais cliniques soit de 7365 patients au total et a été montée pour étudier l'association entre 3 variants de *DPYD* (1679T>G, c.1236G>A/HapB3, et c.1601G>A) et les toxicités sévères aux fluoropyrimidines. Nous avons aussi comparé notre travail à deux autres études, cherchant à valider de manière prospective la réalisation d'une adaptation de dose de fluoropyrimidines en fonction des résultats d'un test de génotypage *DPYD*, comprenant 1 variant (*DPYD**2A) pour l'étude de Deenen publiée en 2016, et 4 variants (*2A, *13, c.2846A>T, HapB3) pour l'étude de Henricks publiée en 2018. Ces deux études ont inclus respectivement 1613 et 1103 patients parmi une population de patients Hollandais (73) (65).

a. Age et sexe de notre population

Les caractéristiques de nos patients sont similaires à celles des patients des différents essais cités par Meulendijks et al. dans sa méta-analyse et de l'étude de Henricks au moins pour l'âge et la répartition des sexes. Dans l'étude de Deenen et al. la répartition des sexes est inversée mais cette étude a inclus en proportion plus de patientes atteintes de cancer du sein que les autres études.

b. Histologie et protocoles de chimiothérapie

Dans notre étude, presque 70% des patients étaient traités pour des cancers du tractus digestif, et plus particulièrement 30% pour un cancer colorectal. La majorité des études portant sur le déficit en DPD et les toxicités après fluoropyrimidines s'intéressent à une population de malades d'oncologie digestive, principalement des patients atteints de cancer colorectal. Les cancers colorectaux dans les études citées par Meulendijks et al. représentaient par exemple entre 53 et 100% des patients.

Concernant le protocole de chimiothérapie, 87.3% de nos patients ont été traités par poly-chimiothérapie et 12.7% sont traités par monochimiothérapie. La poly chimiothérapie la plus utilisée dans notre étude est le FOLFOX (37% des patients). Dans les essais cités par la méta-analyse de Meulendijks, les protocoles de polychimiothérapies sont aussi majoritaires, mais la répartition entre poly et monochimiothérapie reste très hétérogène, avec par exemple des essais comportant exclusivement des protocoles de polychimiothérapies.

De plus, peu de patients dans notre étude étaient traités par capécitabine orale (12,4%) ce qui est généralement retrouvé dans les cohortes françaises (102). Cela n'est pas observé dans les cohortes d'autre pays d'Europe (Anglaises, Hollandaises) car ces pays utilisent majoritairement la capécitabine plutôt que le 5-FU. Par exemple dans l'étude prospective de Deenen et al. seulement 10% des 1631 patients inclus étaient traités par 5-FU IV (73). La faible proportion de patients sous fluoropyrimidine orale dans notre essai peut aussi être due à la manière dont nous avons inclus les patients de notre étude, en privilégiant les recherches via les logiciels de chimiothérapie intra veineuses. La proportion de primo prescription de fluoropyrimidine peut donc ne pas refléter la réalité de la pratique des 6 centres d'oncologie chez qui nous avons recruté nos patients.

Finalement, nos patients étaient peu traités par des thérapies ciblées tels que le cetuximab ou le bevacizumab en comparaison aux autres études les utilisant. Ceci est expliqué par la plus faible proportion de patients suivis pour un CCR dans notre étude et par ce que nous n'avons suivi les patients qu'entre la première et la deuxième cure de chimiothérapie, un certain nombre de patients n'avaient ainsi pas encore débuté de traitement par thérapie ciblée (attente du statut RAS).

c. Stades des cancers

Dans notre étude, la proportion de patients au stade non curatif (55%) excédait celle des patients au stade curatif (45%). La proportion de patients à un stade potentiellement curatif reste néanmoins importante. Ceci souligne d'autant plus l'importance de l'identification des patients à risque de toxicité sévère, ceux-ci étant traités par chimiothérapie dans le but seul de diminuer un risque potentiel de récurrence avec parfois des gains en survie globale limités dans les essais cliniques.

Dans l'étude de Deenen, il y avait une proportion similaire de patients présentant une maladie métastatique et une maladie localisée, 36% et 37% respectivement en s'intéressant aux patients atteints de cancers du sein et de CCR. Dans l'étude de Henricks et al. 43% de la population était traitée pour un CCR non métastatique et 21% des patients pour un CCR métastatique. Le stade du cancer du reste de la population étudiée (sein, estomac, autre) n'était pas connu.

Au total concernant l'âge, la répartition des sexes et le stade de la maladie cancéreuse, notre population reste relativement similaire aux larges études menées de manière prospective ou rétrospective sur le sujet. Concernant l'histologie, notre population est plus hétérogène que les autres études sur le sujet, qui concernent habituellement très majoritairement des patients atteints de CCR. Concernant les protocoles de

chimiothérapie, notre population diffère des études similaires par la faible proportion de patients traités par capécitabine, ce qui est du à la fois aux habitudes de thérapeutique oncologique nationale mais aussi à la méthodologie de recrutement de nos patients.

d. Épidémiologie des patients déficitaires

Concernant le génotypage :

L'incidence des 4 variants délétères « consensuels » de *DPYD* dans notre étude est relativement concordante avec les incidences retrouvées dans la méta-analyse de Meulendijks.

Pour l'haplotype HapB3, Meulendijks et al retrouvent une incidence de 4,15% parmi une population de 4261 patients majoritairement d'origine caucasienne et nous retrouvons dans notre étude une incidence de 4,2%.

Pour l'haplotype *2A, Meulendijks et al retrouvent une incidence de 1,04% de patients hétérozygotes parmi une population de 5737 patients et nous retrouvons dans notre population une incidence plus faible de 0,6%.

Concernant le variant *13 à l'état hétérozygote, l'incidence dans notre population est de 0,2% ce qui correspond exactement à l'incidence retrouvée dans la population des 5616 patients de la méta analyse de Meulendijks.

Finalement, nous n'avons par contre retrouvé qu'un seul patient présentant la mutation c.2846A>T à l'état hétérozygote, soit une incidence de 0,2% pour cette mutation. Ceci est relativement plus bas que l'incidence de 1,16% retrouvée par Meulendijks chez les 7318 patients étudiés.

Par contre en comparaison avec l'essai prospectif de Henricks publié en 2018, nous totalisons moins de patients mutés pour les 4 variants « consensuels », l'auteur

retrouvant 8% de patients mutés pour ces variants contre seulement 4,2% des patients de notre population.

Concernant l'haplotype *DPYD**4 nous avons retrouvé 15 patients présentant ce variant à l'état hétérozygote, soit une incidence de 3,2%. Ce variant, considéré *in vitro* et sur les dernières données cliniques disponibles comme ayant des conséquences bénignes sur l'activité DPD est l'un des variants fréquent non délétères à être tout de même cité dans le compte rendu d'analyse du génotypage DPD réalisé par le CHRU de Lille. Ceci peut être expliqué par les données contradictoires sur le sujet notamment les résultats de l'étude de Loganayagam et al (59) qui retrouve un lien entre ce variant et les toxicités de grade 3 et 4 après fluoropyrimidine. L'incidence de ce variant dans notre population est légèrement moins importante que celle retrouvée par Meulendijks dans sa population de 3900 patients étudiés (incidence de 4,7%).

Au total dans notre population, nous avons retrouvé 51 patients présentant un variant du gène *DPYD* cité sur compte rendu d'analyse soit 10% des patients testés. La proportion de patients présentant un variant *DPYD* est nettement plus faible que dans l'étude de Etienne-Grimaldi et al publiée en 2017 qui retrouve 54 patients présentant un variant *DPYD* sur 243 testés soit une incidence de 22% (76). La sous-représentation des variants, principalement des variants non délétères, est expliquée par la décision du centre de biopathologie du CHRU de Lille de ne pas faire apparaître dans le rapport de recherche de déficit en DPD les patients présentant un variant de *DPYD* fréquent considéré comme non délétères tels que c.496A>G (M166V), c.1627A>G (I543V), c.1896 T>C (F632F) et c.2194 G>A (V732I).

En excluant les 4 variants habituellement recherchés par le génotypage *DPYD*, ainsi que l'haplotype *DPYD**4, nous avons retrouvé un variant « rare » de *DPYD* chez 11

patients de notre étude, ce qui correspond à 1,8% de la population testée. Parmi ces 11 patients :

- Deux patients présentent des variants non étudiés *in vitro* dans la littérature : c.2180-3T>C et c.1751C>T et chez qui il a été proposé une diminution de dose de 50% de fluoropyrimidine après analyse *in silico*.
- Un patient avec un variant considéré comme normal *in vitro* (c.2161G>A) mais potentiellement délétère *in silico* et chez qui il a été proposé de ne pas diminuer la dose de fluoropyrimidine.
- Un patient présentait le variant 557A>G qui est considéré comme modérément délétère *in vitro* et chez qui une diminution de dose initiale de 25% de fluoropyrimidine a été proposée.
- Sept patients présentant 5 variants différents qui eux ont été bien décrits par Offet et al. comme non délétères *in vitro* (c.496A>G à l'état homozygote chez trois patients, c.1218G>A chez deux patients, 1615G>A. pour un patient et c.2567C>T pour un patient).

Nous n'avons pas recueilli l'origine ethnique de nos patients et n'avons donc pas classé l'incidence des variants en fonction de leur ethnie. Néanmoins notre population comprend probablement en majorité des patients d'origine caucasienne ce qui explique la concordance de nos chiffres avec ceux des études de patients Hollandais de Meulendijks, Henricks et Deenen.

Concernant le phénotypage :

Parmi notre population testée 4,4% (n=21/478) des patients présentaient une uracilémie > 16 ng/mL et Meulendijks en 2017 dans son étude retrouve une proportion

de patients concordante à nos chiffres avec 3,4% (n=17/500) des patients présentant une uracilémie > 16 ng/mL (88). Dans d'autres études, notamment dans l'étude Etienne Grimaldi comprenant des effectifs de patients moins importants, on retrouve jusqu'à 9% de patients présentant une uracilémie > 16 ng/mL (n =18/203) (76).

Il est à noter que chez presque 5% de nos patients dépistés, le résultat du phénotypage n'a finalement pas pu être rendu. La cause qui figurait sur le compte rendu d'analyse était très souvent une problématiques pré-analytique, les conditions de conservation des échantillons avant analyse étant très strictes dans le cas des dosages d'uracile et de dihydrouracile. En comparaison, Marin et al. rapportent dans leur étude 10,2% d'erreurs d'acheminement en pré analytique, correspondant pour la majorité à des tubes destinés au phénotypage DPD arrivés trop tardivement et/ou à l'état non congelé (103).

e. Concordance entre le phénotypage et le génotypage

Nous ne retrouvons pas de lien entre les résultats du génotypage *DPYD* et les résultats de phénotypage par uracilémie en utilisant un test de concordance. Ceci est similaire aux résultats retrouvés par Etienne-Grimaldi et al (76). Les auteurs n'ont en effet pu retrouver une concordance entre le génotypage *DPYD* et le rapport UH2/U que pour l'haplotype *2A et la mutation c.2846A>T. La concordance entre l'uracilémie et le génotypage *DPYD* n'a été retrouvée qu'avec la mutation c.2846A>T. A la lumière de ces résultats, on peut estimer que la mesure de l'uracilémie ne permet de dépister qu'une faible proportion des patients présentant un variant délétère de *DPYD*. Les patients avec une uracilémie augmentée (réalisée dans des conditions pré analytiques validées) sans anomalies au génotypage *DPYD* pourraient correspondre à des

patients présentant d'autres anomalies de la voie du catabolisme de l'uracile mais cela reste à prouver dans des essais cliniques dédiés.

Une correspondance plus robuste entre génotypage et phénotypage a été retrouvée en utilisant la mesure de l'activité DPD sur PBMC dans l'étude de Henricks et al. (65). Ce dernier montre en réalisant cette méthode de phénotypage directe chez 138 patients de sa cohorte, une moyenne d'activité DPD significativement plus basse pour les patients porteurs des variants HapB3, *2A et de la mutation c.2646A>T en comparaison aux patients non mutés.

Finalement, de manière plus surprenante, notre test de concordance ne retrouve pas de correspondance entre le ratio dihydrouracile sur uracile et uracilémie. La concordance de ces deux tests n'a pas été étudiée dans l'étude d'Etienne-Grimaldi ni dans d'autres essais cliniques à notre connaissance. Le faible nombre de patients présentant un rapport UH2/U anormal (<6) dans notre étude (5 patients sur 478) peut expliquer ces résultats négatifs. De plus, selon le travail de plusieurs auteurs, le rapport UH2/U serait surtout le reflet de l'activité de l'enzyme dihydropyrimidinase, qui est rapidement saturée même à concentrations physiologiques. Le rapport UH2/U à des concentrations d'uracile et de dihydrouracile physiologiques ne serait donc pas un bon reflet de l'activité DPD alors que ce test paraît plus intéressant à des concentrations importantes de substrat (88) (104). D'après ces hypothèses, l'ingestion d'une dose d'uracile test suivie de la mesure d'uracile et/ou du rapport UH2/U semble une piste très intéressante pour augmenter à la fois la sensibilité et la spécificité du phénotypage DPD et demande à être validée sur des essais ultérieurs.

IV.1.B. Résultats sur le critère de jugement principal :

Dans notre étude, nous avons décidé d'utiliser un critère de jugement novateur qui correspond à notre sens, au meilleur moyen d'étudier les toxicités précoces liées aux fluoropyrimidines dans notre étude. A cause du caractère rétrospectif du recueil de données et de la proportion importante de patients recevant un protocole de polychimiothérapie, le critère de toxicité sévère de grade 3 à 5 utilisé dans la plupart des essais sur le sujet nous semblait moins robuste pour refléter les conséquences d'une toxicité précoce liée au fluoropyrimidines. Nous avons donc choisi un critère composite qui pouvait être retrouvé objectivement dans les dossiers des patients, correspondant à une diminution de dose de fluoropyrimidine au deuxième cycle de chimiothérapie.

Notre étude n'a pas mis en évidence de différence significative sur ce critère de jugement en comparant tous les patients dépistés quel que soit la méthode de dépistage au groupe de patients non dépistés pour le déficit en DPD. De plus, en s'intéressant aux sous-groupes de patients, la proportion de patients nécessitant une diminution de dose de fluoropyrimidine à la deuxième cure de chimiothérapie est très similaire que les patients aient eu un dépistage combiné, un phénotypage seul, un génotypage seul ou qu'ils n'aient pas été dépistés avec respectivement 21.1%, 30%, 18.8% et 20,2% de patients nécessitant une diminution secondaire de dose. On remarque que l'évènement est relativement fréquent dans tous les groupes car après seulement une cure de chimiothérapie environ 20% des patients voient leur dose de fluoropyrimidine diminuer.

En comparant plusieurs critères recueillis dans notre analyse tels que le stade du cancer, le protocole de chimiothérapie, la présence d'un bolus dans le protocole ou la

méthode de dépistage, seul le protocole de chimiothérapie est significativement associé à une diminution de dose de fluoropyrimidine au deuxième cycle.

Ces résultats sont à mettre en perspective car les reports de chimiothérapie représentent une proportion importante des causes de diminution de dose et représentent surtout des reports d'une semaine ou moins de chimiothérapie (n=62/91). Or le report de la chimiothérapie pouvait ne pas refléter uniquement la toxicité des fluoropyrimidines mais aussi la toxicité des autres molécules de chimiothérapie.

Pour aller plus loin, nous nous sommes intéressés à l'analyse des patients présentant un risque de toxicité aux fluoropyrimidines (phénotypage DPD anormal ou génotypage *DPYD* déficitaire) en faisant une analyse de sous-groupe pour le critère de jugement principal. Chez les patients dont le statut déficitaire était connu et qui ont donc pu avoir une adaptation de dose de chimiothérapie avant primo prescription, il semble y avoir moins de diminution secondaire de dose de chimiothérapie à la deuxième cure (8.8% des patients) contrairement aux patients dont le statut déficitaire n'était pas encore connu et qui n'ont donc pas reçu d'adaptation de dose (22.2% des patients). Néanmoins devant le nombre d'événements trop peu nombreux, aucune analyse statistique fiable ne peut être menée et donc aucune conclusion ne peut être tirée.

Chez une faible proportion de patients (n=6/597), la fluoropyrimidine a été retirée du protocole de chimiothérapie dès le deuxième cycle. Aucun de ces patients ne présentait un génotypage DPD déficitaire ou une uracilémie augmentée. La cause de l'arrêt de fluoropyrimidine n'a pas été spécifiquement recueillie pour ces patients et un seul patient présentait une toxicité de grade 3 ou supérieure (neutropénie grade 3). Pour ces patients il se peut qu'une toxicité qui soit en lien avec les métabolites du 5-FU ait eu lieu, comme une toxicité cardiaque.

De plus, chez 37 patients la deuxième cure de chimiothérapie n'a pas pu être réalisée. Afin de diminuer le biais de confusion, nous avons exclu de l'analyse de notre critère de jugement principal 25 patients n'ayant pas reçu le deuxième cycle pour d'autres causes qu'une toxicité de la chimiothérapie. Parce que notre sujet s'intéresse tout d'abord à dépister les patients à risque de toxicité sévère, nous avons décidé de ne pas considérer comme un événement pour notre critère de jugement principal les augmentations secondaires de doses de fluoropyrimidines en cas de bonne tolérance après la première cure, ce qui est arrivé chez 7 patients déficitaires chez qui la dose initiale de fluoropyrimidine avait été diminuée.

Au total, la comparaison de nos populations sur notre critère composite n'a pas fait ressortir de différences significatives entre les différentes populations étudiées en fonction des groupes de dépistage de déficit en DPD.

En analysant la littérature, nous n'avons pas retrouvé d'autre étude utilisant ce critère de jugement qui reste néanmoins intéressant chez des populations recevant des polychimiothérapies et dans le cadre d'un recueil rétrospectif de données.

IV.1.C. Résultats sur les critères de toxicité :

Comme détaillé en annexe 7, nous avons recueilli à partir des dossiers cliniques les toxicités hématologiques et extra hématologiques entre la première et la deuxième cure de chimiothérapie pour les 597 patients de notre étude. Du fait du caractère rétrospectif, nous avons beaucoup de données manquantes, surtout concernant certaines toxicités extra hématologiques comme par exemple le syndrome mains pieds et les mucites, avec jusqu'à 66,3 et 51,6% de données manquantes respectivement.

Après la première cure de chimiothérapie, nous retrouvons 13,7% de toxicités de grade 3 ou supérieure dans notre population (8,2% de toxicité hématologique et 6,9% de toxicité extra hématologique). Ces données sont difficiles à comparer à d'autres essais sur le sujet car Henricks et al. ont par exemple recueilli les toxicités pendant toute la durée du traitement, avec des toxicités plus élevées de grade 3 et supérieures chez leurs patients (23% dans la cohorte des patients non mutés et 39% pour la cohorte de patients mutés *DPYD*) (65). Etienne-Grimaldi et al. ont quant à eux recueilli prospectivement les toxicités graves après les deux premiers cycles de capécitabine. On retrouve dans cet étude une proportion de patients présentant une toxicité grave hématologique, digestive et neurologique de 12,4%(n=30/242) soit similaire à celle retrouvée dans notre étude.

a. Toxicité en fonction du test réalisé et en fonction de la population.

Dans notre étude, nous n'avons pas montré d'association significative entre les toxicités graves après le premier cycle de fluoropyrimidines et la méthode de dépistage du déficit en DPD réalisée. L'incidence des toxicités graves après fluoropyrimidine est similaire entre le groupe dépistage combiné et le groupe non dépisté avec respectivement 14,2 et 14,4% de patients présentant une toxicité grave. Nous ne retrouvons pas non plus d'association significative en analysant séparément les groupes de patients en fonction des toxicités hématologiques ou extra-hématologiques.

Nous nous sommes aussi intéressés à décrire les toxicités sévères en fonction du risque de sur toxicité après fluoropyrimidine et non en fonction du type de test de dépistage. Parmi nos 35 patients à risque de toxicités dont la dose de chimiothérapie a pu être adaptée initialement, seulement deux (5,7%) ont présenté une toxicité grave

alors que deux patients sur les huit à risque de toxicité dont la dose de chimiothérapie n'a pas été adaptée initialement ont présenté une toxicité sévère (20%). Pour les patients sans risque identifié de toxicité grave et donc sans adaptation de dose initiale, 64 patients ont présenté une toxicité grave soit 13,5% de la population. Même si aucune conclusion ne peut être tirée du fait de ces faibles effectifs, ces résultats sont en faveur de l'adaptation de dose de fluoropyrimidine initiale chez les patients présentant un phénotypage ou un génotypage anormal.

Henricks et al. dans leur étude prospective ont aussi comparé une population de patients mutés *DPYD*, ayant donc eu une diminution de 25 ou de 50% de dose en fonction du variant, à une population de patients non mutés. Mais malgré la diminution de dose, les auteurs retrouvent tout de même une toxicité sévère après fluoropyrimidine significativement plus importante dans le groupe de patients mutés. La principale conclusion des auteurs au vu d'un tel résultat est l'hypothèse qu'une diminution de dose de 25%, qui était proposée pour les patients porteurs des variants c.1236G>A et c.2846A>T, ne serait pas suffisante pour diminuer significativement les toxicités sévères. Cette hypothèse ne semble pas être retrouvée dans notre étude car même si une analyse statistique n'a pas été réalisée (du fait de nos faibles effectifs) il n'existe pas de franche sur-toxicité chez nos patients mutés *DPYD* ayant bénéficié d'adaptation de dose de fluoropyrimidine préalable au premier cycle de traitement et selon les recommandations actuelles.

Une autre étude similaire à la nôtre est l'étude de Deenen. et al. Dans cette étude portant sur 2038 patients ayant bénéficiés d'une recherche du variant *2A avant chimiothérapie à base de fluoropyrimidine entre 2007 et 2011, la mutation a été mise en évidence chez 22 patients à l'état hétérozygote (1,1%) et chez aucun patient à l'état

homozygote. L'auteur a mis en évidence une diminution significative des toxicités dans le groupe muté ayant bénéficié d'une adaptation de dose avant fluoropyrimidines en comparaison au groupe contrôle de patients retrouvés dans la littérature et n'ayant pas reçu d'adaptation de dose préalable. En effet l'incidence des toxicités grade 3 et 4 semble réduite de manière importante car elle est de 73% dans la cohorte historique et de 28% dans le groupe de patient dont la dose a été adaptée au génotypage *DPYD* *2A. Dans la population de l'auteur avec adaptation de dose, il n'y a pas eu de décès toxique contre 10% dans la cohorte historique de patients mutés sans adaptation de dose. Cette étude est importante car il s'agit de la première étude suggérant de manière prospective l'intérêt de l'adaptation de dose initiale de fluoropyrimidine en fonction du génotypage *DPYD* pour éviter au moins une partie des toxicités sévères liées aux fluoropyrimidines. Là encore l'incidence des toxicités sévères reste élevée après l'adaptation de dose en comparaison à notre étude mais les toxicités ont été recueillies sur une période plus importante avec suivi médian de 4 à 5 cycles de chimiothérapie en fonction des groupes.

Au contraire, une troisième étude menée par Launay et al en 2017 a étudié l'adaptation de dose de fluoropyrimidine initiale en se basant sur le rapport UH2/U et retrouve une proportion bien moins importante de toxicité précoce sévère (85). Dans cette étude 218 patients ont été inclus et la toxicité après les deux premiers cycles de chimiothérapie ainsi que la toxicité de l'ensemble des cycles du protocole ont été recueillies. De manière surprenante, l'auteur ne retrouve que 6% de toxicités sur les deux premiers cycles chez les patients métaboliseurs extensifs (EM), et aucune toxicité grave chez les patients déficitaires sur le phénotypage (PM) qui avaient donc bénéficié d'une adaptation antérieure de dose de fluoropyrimidine. Cette étude comprend plusieurs biais avec des patients exclus car la preuve de la diminution de

dose ou le rapport de toxicité n'avait pas été retrouvé. On retrouve aussi finalement chez Launay et al. la problématique pré analytique que pose le phénotypage car parmi les 218 patients inclus, 19 ratios UH2/U n'ont pas pu être interprétés.

b. Toxicité en fonction de la chimiothérapie.

Nous avons effectué plusieurs analyses pour vérifier la validité interne de nos données sur des facteurs objectifs comme la toxicité en fonction du protocole de chimiothérapie. Nous avons ainsi étudié l'incidence des toxicités sévères en séparant la population en deux groupes, le groupe monochimiothérapie et le groupe polychimiothérapie. Sur le critère de toxicité sévères de tout type, nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence entre les deux groupes, en raison probablement du faible effectif de patients dans le groupe monochimiothérapie (76 patients). Par contre en s'intéressant aux toxicités extra hématologiques et malgré le manque d'effectif, nous avons mis en évidence une différence significative entre les deux groupes avec un OR de 6,2 avec un intervalle de confiance à 95% large (1, 02 à 255) et un $p = 0, 048$ ce qui démontre une certaine cohérence dans notre recueil de données. Par contre nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence significative concernant le risque de toxicités graves en fonction de la présence ou de l'absence de bolus de 5-FU dans le protocole de chimiothérapie chez les patients de notre étude. Ceci va à l'encontre de certaines données faisant état d'une surtoxicité au niveau hématologique des protocoles avec 5-FU en bolus seul comparé aux protocoles de 5-FU continu seuls (22). Néanmoins, les données de toxicité et d'efficacité manquent sur ce sujet, surtout pour comparer les protocoles de chimiothérapie avec 5-FU en continue comportant ou non un bolus de 5-FU.

IV.1.D. Modifications de dose et toxicités pour les patients avec variants rares

Dans notre étude, nous avons donc recueilli les informations cliniques de toxicité entre les deux premiers cycles et les modifications de dose de chimiothérapie au deuxième cycle chez les 11 patients porteurs d'un variant rare, peu étudié, du gène *DPYD*. Il s'agit donc de données avec un intérêt scientifique. Parmi ces 11 patients, seul un d'entre eux n'a pas reçu l'adaptation de dose proposée par le laboratoire (diminution de dose de 25% de fluoropyrimidine chez un patient présentant le variant double hétérozygote c.557A>G et c.3067C>A). Ce patient n'a finalement pas nécessité de diminution de dose de au deuxième cycle et n'a pas présenté de toxicité de grade 3 ou plus.

Parmi les 10 présentant un variant *DPYD* rare et ayant eu leur dose de fluoropyrimidine adaptée dès le premier cycle, 6 patients ont présenté une toxicité de grade 3 ou 4 après le premier cycle et 5 patients ont nécessité une diminution de dose de fluoropyrimidine au deuxième cycle. La cause des diminutions de dose est un report de cure chez 4 patients (dont deux se sont aussi vu diminuer les doses de fluoropyrimidine pour le deuxième cycle) et un arrêt de traitement pour toxicité. La forte incidence des modifications de chimiothérapie (50%) et des toxicités sévères précoces (60%) chez ces patients pose question. Par exemple deux patients sur les trois présentant le variant c.496A>G (M166V) à l'état homozygote ont présenté des toxicités sévères avec la nécessité de diminuer la dose de fluoropyrimidine pour un patient et l'arrêt complet du protocole de chimiothérapie pour toxicité chez le deuxième patient. Or ce variant de *DPYD*, même à l'état homozygote est supposé être non délétère *in vitro* et *in vivo*, plusieurs essais cliniques n'ayant pas retrouvé d'association de ce variant avec les toxicités sévères après fluoropyrimidine (105) (106).

IV.1.E. Modalités pratiques de réalisation des tests de dépistage

a. Délais des différents tests.

Dans les recommandations de l'INCa / HAS de décembre 2018, le respect d'un délai de rendu de résultats inférieur à 7 à 10 jours est préconisé. Un délai plus long pourrait être préjudiciable au patient d'après les auteurs. Selon les auteurs, le taux de résultats rendus dans un délai supérieur à dix jours serait passé en France de 60% en 2016 à 17% en 2017. Nous nous sommes donc intéressés, dans le cadre de l'évaluation des pratiques dans nos six centres, au délai entre la prescription du test de recherche de déficit en DPD et la date notée sur le compte rendu officiel du laboratoire du CHRU de Lille ainsi qu'au délai entre la date sur le compte rendu et la première cure de chimiothérapie. Il est important de préciser que la date sur le compte rendu des résultats de recherche de DPD n'est pas forcément représentative de la date à laquelle le clinicien demandeur de l'examen reçoit l'information sur le statut DPD du patient pour lequel il a demandé la recherche. Dans certains cas la transmission de ce résultat pourrait être plus longue. Le délai médian entre la prescription et la date du compte rendu chez les patients dépistés par la technique d'intérêt c'est-à-dire la méthode combinée est de 12 jours, avec 50% des délais de rendu entre 10 et 14 jours. Pour la technique de dosage de l'uracilémie actuellement recommandée en France, le délai médian entre prescription et compte rendu est de 8.5 jours, avec 50% des délais entre 6 et 12 jours. A la lumière de ces résultats, le phénotypage répond donc aux attentes des recommandations INCa/HAS de 2018. On peut tout de même souligner qu'un certain nombre de patients bénéficiant d'un phénotypage seul sont tout de même hors délais, car pour 25% des patients, le délai de rendu est supérieur à 12 jours.

Ces résultats sont aussi à mettre en perspective avec le délai entre la signature du compte rendu par le biologiste et le premier cycle de chimiothérapie contenant une fluoropyrimidine. En effet la médiane de délai est de 8 jours pour les patients ayant été dépistés par méthode combinée et de 9,5 jours pour les patients ayant été dépistés par phénotypage seul. Au total dans notre étude pour les patients dépistés, le délai entre prescription de la recherche de déficit en DPD et le début de la chimiothérapie varie entre 17 et 20 jours en médiane.

b. Influence de l'heure de recueil.

Comme cela est visible sur le tableau 31, nous retrouvons une tendance à la diminution progressive de l'uracilémie en fonction de l'heure de la journée chez nos patients, avec une uracilémie médiane de 7,10 ng/mL en tout début de journée (entre minuit et 8h) et une uracilémie médiane de 5,05 ng/mL en fin de journée (entre 17h et minuit). Ces résultats sont concordants avec les résultats retrouvés dans plusieurs études s'intéressant à la question et qui concluent à une variabilité circadienne de l'activité de la DPD (86) (13). Les recommandations de Henricks et son équipe, qui proposent de doser l'uracile et le dihydrouracile entre 8 et 9h le matin nous semblent donc raisonnables et permettraient d'éviter des potentiels faux négatifs dûs à la réalisation d'une uracilémie trop tardive dans la journée. Nous ne nous sommes pas intéressés au statut alimentaire des patients au moment de l'analyse mais il est à noter que Hendricks et son équipe, après avoir démontré la diminution significative de l'uracilémie après une prise alimentaire, recommandent aussi au patient d'être à jeun au moment du recueil DPD.

IV.1.F. Évolution des pratiques de dépistage.

Le Graphique 1 présenté dans nos résultats permet d'apprécier l'évolution des techniques de dépistage du déficit en DPD disponible lors de la première cure de chimiothérapie avec le temps. On apprécie deux tendances. La première montre la majoration importante de la proportion de patients dépistés avant primo prescription de fluoropyrimidine dans nos 6 centres entre le mois suivant la publication des mises à jour recommandations du GPCO-Unicancer et RNPGx et la fin de notre étude. La deuxième est incomplète et montre un début de majoration sur les deux derniers mois de l'étude de la proportion de phénotypage seul, suivant la publication des recommandations de décembre 2018 de l'HAS et de l'INCa. Nous n'avons pas retrouvé d'études, en France ou dans d'autres pays portant sur l'évolution de la pratique des tests de dépistage du déficit en DPD en fonction du temps. Il est important de rappeler que ces résultats ne décrivent que l'évolution des pratiques locales, à l'échelle de 6 centres pratiquant l'oncologie, dans les départements du Nord et du Pas-de-Calais et qu'ils ne peuvent pas s'extrapoler sur le reste de la France, la région Hauts-de-France ou même les départements du Nord et du Pas-de-Calais.

IV.2 Limites et forces de l'étude :

La force de notre étude repose dans son caractère novateur car nous n'avons pas à ce jour retrouvé dans la littérature d'essai clinique rétrospectif ou prospectif évaluant le bénéfice du dépistage du déficit en DPD par séquençage complet de son gène.

Les caractéristiques de notre population sont relativement similaires à celles des patients inclus dans d'autres essais étudiant le même sujet et nous pensons que le

critère de jugement principal utilisé est le plus objectif possible dans le cadre d'un recueil de données rétrospectif.

Notre étude a permis de mettre en évidence des mutations rares du gène *DPYD* et d'apporter des informations cliniques sur la tolérance clinique et biologique précoce des patients mutés après la première cure de chimiothérapie.

Notre étude apporte finalement des données sur l'état des lieux des pratiques cliniques dans 6 centres pratiquant l'oncologie dans le Nord de la France.

Notre étude présente par contre plusieurs biais qui incitent à la prudence quant à l'interprétation de nos résultats :

Un certain nombre de patients n'ont eu comme test de dépistage qu'un phénotypage ou qu'un génotypage *DPYD* (respectivement 41 et 44 patients). Il existe donc une proportion de patients présentant un risque de toxicité grave aux fluoropyrimidines qui n'ont pas été dépistés. Cette donnée pourrait changer certains résultats de cette étude, même s'il s'agit probablement d'un faible effectif de patients.

Nous n'avons aussi pas récupéré les doses exactes de fluoropyrimidines utilisées dans les protocoles de chimiothérapie ainsi que les doses exactes des autres molécules dans le cadre de protocoles de polychimiothérapie. Néanmoins nous avons décrit le protocole de chimiothérapie précis utilisé pour chaque patient (dont les doses sont standardisées par rapport à la surface corporelle) ainsi que la présence d'un bolus de 5-FU pour chacun des patients avec peu de données manquantes pour cette variable. Nous n'avons aussi pas intégré dans notre analyse les diminutions de dose de fluoropyrimidine réalisées pour une autre cause que pour diminuer le risque de toxicité sévère chez les patients présentant un génotypage ou un phénotypage DPD anormal (exemple : diminution de dose initiale chez un patient avec comorbidités ou

avec un état général altéré), ce qui peut représenter un biais pour l'interprétation des résultats.

Nous avons décidé d'évaluer les toxicités précoces présentées par nos patients et dans ce cadre nous n'avons étudié les toxicités qu'entre le premier et le deuxième cycle de chimiothérapie et n'avons recueilli les modifications de doses qu'au deuxième cycle de chimiothérapie et pas pour les cycles suivants. De nombreuses autres études sur le sujet ont plutôt évalué les toxicités sur la totalité du traitement et un certain nombre ont étudié spécifiquement les toxicités précoces comme nous l'avons fait mais en cumulant les données de toxicité après quelques cycles initiaux cycles de chimiothérapie (souvent les 2 premiers cycles).

De plus, il existe certaines limites de notre étude qui ne sont pas directement liées à la manière dont nous avons mené notre recueil de données et analysé nos résultats.

Il existe une limite technique du génotypage du gène *DPYD* par NGS réalisé au CHRU de Lille qui est inhérente à cette méthode : elle ne met pas de mettre en évidence les anomalies de structure des gènes en général et donc du gène *DPYD*. Aussi, cette technique ne recherche pas pour le moment les mutations introniques profondes, qui peuvent parfois avoir une conséquence sur le fonctionnement de la protéine codée (comme c'est le cas pour les patients présentant l'haplotype Hap B3). Il existe donc tout de même une possibilité de faux négatifs pour cette technique.

Pour finir, la diminution de dose de chimiothérapie représentée par le décalage d'un cycle de chimiothérapie pouvait aussi être le résultat d'une toxicité autre que celle d'une fluoropyrimidine, nos patients étant traités pour la grande majorité par polychimiothérapie.

Pour aller plus loin, nous n'avons pas non plus inclus, comme a pu le faire Henricks et al, l'analyse de l'efficacité de la chimiothérapie sur le plan oncologique chez la

population de patients à risque de toxicité sévère ayant reçu une diminution initiale de dose de chimiothérapie. Ce facteur a été par exemple analysé par Launay et al. et l'auteur ne retrouve pas de différence en terme de réponse radiologique entre les populations avec un rapport UH2/U anormal dont la dose a été diminuée et la population avec un ratio UH2/U normal dont la dose n'a pas été diminuée (85).

Finalement, nous n'avons pas réalisé comme Deenen et al. a pu le faire, d'analyse du rapport coût-efficacité de la méthode de dépistage du déficit en DPD. Ce dernier a pu prouver l'intérêt sur le plan économique du dépistage seul du variant *2A, pourtant relativement peu fréquent, chez tous les patients débutant un traitement par chimiothérapie comprenant une fluoropyrimidine. Selon l'auteur, une économie de 44 euros par patient est faite en réalisant un dépistage du variant *2A, et donc en évitant la toxicité des fluoropyrimidines dans cette situation. Ce chiffre pourrait être bien plus élevé en cas de dépistage de l'intégralité des variants délétères de *DPYD* comme il est possible avec le séquençage complet du gène.

V Conclusion

Dans un contexte de ou la connaissance de la pharmacologie des différents médicaments utilisés en médecine et notamment en oncologie se précise de plus en plus, la question d'identifier précocement des groupes de patients à risque d'effet indésirables graves se justifie.

Dans le cadre des fluoropyrimidines, les données de la littérature des 40 dernières années ont montré l'existence d'un pourcentage significatif de patients à risque de

toxicité grave après fluoropyrimidine, mais aussi la possibilité d'en identifier au moins une partie avec des tests phénotypiques ou génotypiques bien décrits. Ces données ainsi que la large utilisation des fluoropyrimidines dans le monde et en France, fait de cette problématique un enjeu de santé publique. Certains obstacles techniques ainsi que la difficulté de démontrer avec un haut niveau de preuve la capacité de ces tests à dépister efficacement les patients à risque de toxicité sévère après fluoropyrimidines pose encore de nombreuses questions. De plus un certain nombre de ces tests n'ont pas encore la sensibilité et/ou la spécificité rendant possible leur mise en place dans le cadre d'un dépistage de masse. A ce jour à notre connaissance, aucun pays hormis la France n'impose de test de dépistage pour identifier les patients à risque de toxicité sévère sous fluoropyrimidine.

L'uracilémie a été retenue en France comme un test obligatoire avant la prescription d'une fluoropyrimidine mais cette méthode de dépistage indirecte semble avoir une sensibilité et une spécificité très médiocre pour l'identification des patients à risque de toxicité grave après de telles chimiothérapies. C'est dans ce contexte, afin d'étudier l'apport d'une technique innovante de génotypage complet du gène *DPYD*, que s'est déroulée notre étude, avec l'hypothèse de voir dans la population ayant bénéficié d'un test combiné (génoypage complet et phénotypage), une réduction significative de toxicité chimio induite mais aussi de diminution secondaire de dose de chimiothérapie.

Dans cette étude, rétrospective, portant sur 597 patients, nous n'avons pas pu montrer de bénéfice significatif d'un dépistage du déficit en DPD, quel qu'en soit la méthode, sur la modification secondaire de dose de fluoropyrimidines, ni sur la toxicité grave précoce entre le premier et deuxième cycle de chimiothérapie. Notre population dépistée a pu être comparée à une cohorte de patients dont la dose initiale de

fluoropyrimidine n'avait pas été adaptée sur les résultats d'un test de dépistage. L'absence de différence de toxicité et de modification précoce de dose de chimiothérapie entre les groupes de patients peut être expliquée par plusieurs biais, certains conditionnés par le type de travail scientifique réalisé, d'autres par le sujet étudié lui-même et qui sont décrits dans la partie discussion de ce manuscrit.

L'étude du sous-groupe des patients déficitaires identifiés met néanmoins en avant plusieurs signaux en faveur d'un dépistage précoce du déficit en DPD avec adaptation des doses de fluoropyrimidines aux résultats dès le premier cycle. Notre étude confirme aussi une mauvaise concordance entre les tests phénotypiques et les tests génotypiques, qui nous paraissent donc plutôt complémentaires qu'échangeables pour dépister le plus de patients à risque de toxicité sévère possible. L'intérêt du dépistage combiné du déficit en DPD associant une uracilémie et le séquençage complet du gène *DPYD* reste donc une technique prometteuse qui nécessiterait d'être validée de manière plus robuste dans un contexte d'essai prospectif. Cette étude nous a permis aussi d'apporter des données cliniques et biologiques de tolérance après fluoropyrimidine chez des patients porteurs de variants rares du gène *DPYD*, identifiés grâce à la technique de séquençage complet. Ces derniers n'auraient pas été identifiés en cas de dépistage par uracilémie seule ou par génotypage réalisé sur les seuls quatre variants habituels.

Finalement, comme le souligne d'autres articles dans la littérature scientifique, d'autres pistes doivent être étudiées afin d'améliorer la sensibilité et la spécificité des tests pré-thérapeutiques pour identifier les patients à risque de toxicité sévère après fluoropyrimidines. Dans le cadre d'un dépistage de masse, il semble aussi obligatoire de prendre en compte la faisabilité mais aussi le coût global de ces techniques. Un

test phénotypique indirect comme le dosage de l'uracilémie sanguine après ingestion d'une dose charge d'uracile peut sembler une méthode intéressante pour augmenter la sensibilité de ce test, d'autant plus que l'uracilémie est maintenant remboursée par la sécurité sociale et sa réalisation est possible dans la plupart des laboratoires français.

VI Bibliographie

1. Rutman R, Cantarowa A, Paschkis NE. Studies in 2-Acetylaminofluorene Carcinogenesis III. The Utilization of Uracil-2-C14 by Preneoplastic Rat Liver and Rat Hepatoma. :6.
2. Heidelberger C, Chaudhuri NK, Danneberg P, Mooren D, Griesbach L, Duschinsky R, et al. Fluorinated Pyrimidines, A New Class of Tumour-Inhibitory Compounds. *Nature*. mars 1957;179(4561):663-6.
3. Duschinsky R, Plevin E, Heidelberger C. THE SYNTHESIS OF 5-FLUOROPYRIMIDINES. *J Am Chem Soc*. août 1957;79(16):4559-60.
4. Diasio RB, Harris BE. Clinical Pharmacology of 5-Fluorouracil: Clinical Pharmacokinetics. *avr* 1989;16(4):215-37.
5. Humeniuk R, Menon LG, Mishra PJ, Gorlick R, Sowers R, Rode W, et al. Decreased levels of UMP kinase as a mechanism of fluoropyrimidine resistance. *Molecular Cancer Therapeutics*. 1 mai 2009;8(5):1037-44.
6. Au JL, Rustum YM, Ledesma EJ, Mittelman A, Creaven PJ. Clinical pharmacological studies of concurrent infusion of 5-fluorouracil and thymidine in treatment of colorectal carcinomas. *Cancer Res*. juill 1982;42(7):2930-7.
7. Modulation of fluorouracil by leucovorin in patients with advanced colorectal cancer: evidence in terms of response rate. Advanced Colorectal Cancer Meta-Analysis Project. *J Clin Oncol*. juin 1992;10(6):896-903.
8. Jacobs BAW, Deenen MJ, Pluim D, Hasselt JGC, Krähenbühl MD, Geel RMJM, et al. Pronounced between-subject and circadian variability in thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase enzyme activity in human volunteers. *Br J Clin Pharmacol*. sept 2016;82(3):706-16.
9. Diasio RB, Lu Z. Dihydropyrimidine dehydrogenase activity and fluorouracil chemotherapy. *JCO*. nov 1994;12(11):2239-42.
10. Heggie GD, Sommadossi JP, Cross DS, Huster WJ, Diasio RB. Clinical pharmacokinetics of 5-fluorouracil and its metabolites in plasma, urine, and bile. *Cancer Res*. 15 avr 1987;47(8):2203-6.
11. van Kuilenburg ABP, Meinsma R, Zonnenberg BA, Zoetekouw L, Baas F, Matsuda K, et al. Dihydropyrimidinase deficiency and severe 5-fluorouracil toxicity. *Clin Cancer Res*. 1 oct 2003;9(12):4363-7.
12. Christophidis N, Vajda FJE, Lucas I, Drummer O, Moon WJ, Louis WJ. Fluorouracil Therapy in Patients With Carcinoma of the Large Bowel: A Pharmacokinetic Comparison of Various Rates and Routes of Administration. *Clinical Pharmacokinetics*. 1978;3(4):330-6.
13. Petit E, Milano G, Lã F. Circadian Rhythm-varying Plasma Concentration of 5-Fluorouracil during a Five- Day Continuous Venous Infusion at a Constant Rate in Cancer Patients. :5.
14. Harris BE, Song R, Soong S, Diasio RB. Relationship between Dihydropyrimidine Dehydrogenase Activity and Plasma 5-Fluorouracil Levels with Evidence for Circadian Variation of Enzyme Activity and Plasma Drug Levels in Cancer Patients Receiving 5-Fluorouracil by Protracted Continuous Infusion. :6.
15. Gustavsson B, Carlsson G, Machover D, Petrelli N, Roth A, Schmoll H-J, et al. A Review of the Evolution of Systemic Chemotherapy in the Management of Colorectal Cancer. *Clinical Colorectal Cancer*. mars 2015;14(1):1-10.
16. Milano G, Etienne-Grimaldi M-C, Mari M, Lassalle S, Formento J-L, Francoual M, et al. Candidate mechanisms for capecitabine-related hand-foot syndrome. *Br J Clin Pharmacol*. juill 2008;66(1):88-95.
17. Layoun ME, Wickramasinghe CD, Peralta MV, Yang EH. Fluoropyrimidine-Induced

- Cardiotoxicity: Manifestations, Mechanisms, and Management. *Curr Oncol Rep.* juin 2016;18(6):35.
18. Nguyen MT, Stoianovici R, Brunetti L. Chemotherapy induced stroke mimic: 5-Fluorouracil encephalopathy fulfilling criteria for tissue plasminogen activator therapy. *The American Journal of Emergency Medicine.* sept 2017;35(9):1389-90.
 19. Meulendijks D, Henricks LM, Sonke GS, Deenen MJ, Froehlich TK, Amstutz U, et al. 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. *The Lancet Oncology.* déc 2015;16(16):1639-50.
 20. André T, Colin P, Louvet C, Gamelin E, Bouche O, Achille E, et al. Semimonthly Versus Monthly Regimen of Fluorouracil and Leucovorin Administered for 24 or 36 Weeks as Adjuvant Therapy in Stage II and III Colon Cancer: Results of a Randomized Trial. *JCO.* 1 août 2003;21(15):2896-903.
 21. Seymour MT, Maughan TS, Ledermann JA, Topham C, James R, Gwyther SJ, et al. Different strategies of sequential and combination chemotherapy for patients with poor prognosis advanced colorectal cancer (MRC FOCUS): a randomised controlled trial. *2007;370:10.*
 22. Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: effect of administration schedule and prognostic factors. Meta-Analysis Group In Cancer. *JCO.* nov 1998;16(11):3537-41.
 23. Ma WW, Saif MW, El-Rayes BF, Fakih MG, Cartwright TH, Posey JA, et al. Emergency use of uridine triacetate for the prevention and treatment of life-threatening 5-fluorouracil and capecitabine toxicity: Uridine Triacetate for 5-FU and Capecitabine. *Cancer.* 15 janv 2017;123(2):345-56.
 24. Diasio RB. Sorivudine and 5-fluorouracil; a clinically significant drug-drug interaction due to inhibition of dihydropyrimidine dehydrogenase. *British Journal of Clinical Pharmacology.* juill 1998;46(1):1-4.
 25. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer.* mai 2003;3(5):330-8.
 26. Aparicio T, Ducreux M, Chaussade S. 5-fluorouracile : données sur le métabolisme et place actuelle dans le traitement des cancers digestifs. 2020;10.
 27. Cook AF, Holman MJ, Kramer MJ, Trown PW. Fluorinated pyrimidine nucleosides. 3. Synthesis and antitumor activity of a series of 5'-deoxy-5-fluoropyrimidine nucleosides. *J Med Chem.* nov 1979;22(11):1330-5.
 28. Mackean M, Planting A, Twelves C, Schellens J, Allman D, Osterwalder B, et al. Phase I and pharmacologic study of intermittent twice-daily oral therapy with capecitabine in patients with advanced and/or metastatic cancer. *JCO.* sept 1998;16(9):2977-85.
 29. Cutsem EV, Hoff PM, Harper P, Bukowski RM, Cunningham D, Dufour P, et al. Oral capecitabine vs intravenous 5-fluorouracil and leucovorin: integrated efficacy data and novel analyses from two large, randomised, phase III trials. *Br J Cancer.* mars 2004;90(6):1190-7.
 30. Twelves C, Wong A, Nowacki MP, Abt M, Burris H, Carrato A, et al. Capecitabine as Adjuvant Treatment for Stage III Colon Cancer. *N Engl J Med.* 30 juin 2005;352(26):2696-704.
 31. Schüller J, Cassidy J, Dumont E, Roos B, Banken L, Mori K, et al. Preferential activation of capecitabine in tumor following oral administration to colorectal cancer patients. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology.* 6 mars 2000;45(4):291-7.
 32. Timmers L, Swart, Boons, Mangnus D, Ven, van de, Peters, et al. The use of capecitabine in daily practice: a study on adherence and patients' experiences. *PPA.* oct 2012;741.
 33. Scheithauer W, McKendrick J, Begbie S, Borner M, Burns WI, Burris HA, et al. Oral capecitabine as an alternative to i.v. 5-fluorouracil-based adjuvant therapy for colon cancer:

- safety results of a randomized, phase III trial. *Annals of Oncology*. déc 2003;14(12):1735-43.
34. Van Cutsem E, Twelves C, Cassidy J, Allman D, Bajetta E, Boyer M, et al. Oral Capecitabine Compared With Intravenous Fluorouracil Plus Leucovorin in Patients With Metastatic Colorectal Cancer: Results of a Large Phase III Study. *JCO*. 1 nov 2001;19(21):4097-106.
 35. Tsifi A, Papaxoinis G, Diamantopoulos P, Mantzourani M, Antoniadou V, Halioti A, et al. A life-threatening drug-drug interaction between capecitabine and brivudine in a patient with metastatic breast cancer. *Journal of Chemotherapy*. 17 nov 2019;31(7-8):424-7.
 36. Bennett JE. Flucytosine. *Ann Intern Med*. 1 mars 1977;86(3):319.
 37. Pirmohamed M. Pharmacogenetics and pharmacogenomics. *Br J Clin Pharmacol*. oct 2001;52(4):345-7.
 38. Food and Drug Administration, HHS. International Conference on Harmonisation; Guidance on E15 Pharmacogenomics Definitions and Sample Coding; Availability. Notice. *Fed Regist*. 8 avr 2008;73(68):19074-6.
 39. Pirmohamed M. Personalized pharmacogenomics: predicting efficacy and adverse drug reactions. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2014;15:349-70.
 40. Roden DM, McLeod HL, Relling MV, Williams MS, Mensah GA, Peterson JF, et al. Pharmacogenomics. *The Lancet*. août 2019;394(10197):521-32.
 41. Berger R, Vries SAS, Wadman SK, Duran M, Beemer FA, de Bree PK, et al. Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency leading to thymine-uraciluria. An inborn error of pyrimidine metabolism. *Clinica Chimica Acta*. août 1984;141(2-3):227-34.
 42. Kuilenburg ABP van, Meijer J, Tanck MWT, Dobritzsch D, Zoetekouw L, Dekkers L-L, et al. Phenotypic and clinical implications of variants in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. avr 2016;1862(4):754-62.
 43. Lu Z, Zhang R, Diasio RB. Dihydropyrimidine Dehydrogenase Activity in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells and Liver: Population Characteristics, Newly Identified Deficient Patients, and Clinical Implication in 5-Fluorouracil Chemotherapy. :7.
 44. Dobritzsch D. Crystal structure of dihydropyrimidine dehydrogenase, a major determinant of the pharmacokinetics of the anti-cancer drug 5-fluorouracil. *The EMBO Journal*. 15 févr 2001;20(4):650-60.
 45. Yokota H, Fernandez-Salguero P, Furuya H, Lin K, McBride OW, Podschun B, et al. cDNA cloning and chromosome mapping of human dihydropyrimidine dehydrogenase, an enzyme associated with 5-fluorouracil toxicity and congenital thymine uraciluria. *J Biol Chem*. 16 sept 1994;269(37):23192-6.
 46. Diasio RB, Beavers TL, Carpenter JT. Familial deficiency of dihydropyrimidine dehydrogenase. Biochemical basis for familial pyrimidinemia and severe 5-fluorouracil-induced toxicity. *J Clin Invest*. 1 janv 1988;81(1):47-51.
 47. Dhelens C, Bonadona A, Thomas F, Chapuis C, Potton L, Marsili S, et al. Lethal 5-fluorouracil toxicity in a colorectal patient with severe dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency. *Int J Colorectal Dis*. mars 2016;31(3):699-701.
 48. Di Paolo A, Danesi R, Falcone A, Cionini L, Vannozzi F, Masi G, et al. Relationship between 5-fluorouracil disposition, toxicity and dihydropyrimidine dehydrogenase activity in cancer patients. *Annals of Oncology*. sept 2001;12(9):1301-6.
 49. Gamelin E, Boisdrion-Celle M, Guérin-Meyer V, Delva R, Lortholary A, Genevieve F, et al. Correlation Between Uracil and Dihydrouracil Plasma Ratio, Fluorouracil (5-FU) Pharmacokinetic Parameters, and Tolerance in Patients With Advanced Colorectal Cancer: A Potential Interest for Predicting 5-FU Toxicity and Determining Optimal 5-FU Dosage. *JCO*. avr 1999;17(4):1105-1105.
 50. van Kuilenburg AB, Haasjes J, Richel DJ, Zoetekouw L, Van Lenthe H, De Abreu RA,

et al. Clinical implications of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency in patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity: identification of new mutations in the DPD gene. *Clin Cancer Res.* déc 2000;6(12):4705-12.

51. Johnson MR, Hageboutros A, Wang K, High L, Smith JB, Diasio RB. Life-Threatening Toxicity in a Dihydropyrimidine Dehydrogenase-deficient Patient after Treatment with Topical 5-Fluorouracil. *Clin Cancer Res.* 1 août 1999;5(8):2006-11.

52. Hiratsuka M, Yamashita H, Akai F, Hosono H, Hishinuma E, Hirasawa N, et al. Genetic Polymorphisms of Dihydropyrimidinase in a Japanese Patient with Capecitabine-Induced Toxicity. *Reis RM, éditeur. PLoS ONE.* 27 avr 2015;10(4):e0124818.

53. Van Kuilenburg ABP, Van Lenthe H, Van Gennip AH. Radiochemical assay for determination of dihydropyrimidinase activity using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.* juin 1999;729(1-2):307-14.

54. Hirota T, Date Y, Nishibatake Y, Takane H, Fukuoka Y, Taniguchi Y, et al. Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) expression is negatively regulated by certain microRNAs in human lung tissues. *Lung Cancer.* juill 2012;77(1):16-23.

55. Offer SM, Butterfield GL, Jerde CR, Fossum CC, Wegner NJ, Diasio RB. microRNAs miR-27a and miR-27b directly regulate liver dihydropyrimidine dehydrogenase expression through two conserved binding sites. *Mol Cancer Ther.* mars 2014;13(3):742-51.

56. Lu J-W, Gao C-M, Wu J-Z, Sun X-F, Wang L, Feng J-F. [Relationship of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and chemosensitivity to 5-fluorouracil in gastric carcinoma]. *Ai Zheng.* août 2004;23(8):958-62.

57. Lecomte T, Ferraz J-M, Zinzindohoué F, Lorient M-A, Tregouet D-A, Landi B, et al. Thymidylate Synthase Gene Polymorphism Predicts Toxicity in Colorectal Cancer Patients Receiving 5-Fluorouracil-based Chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 1 sept 2004;10(17):5880-8.

58. Caronia D, Martin M, Sastre J, Torre J de la, García-Sáenz JA, Alonso MR, et al. A Polymorphism in the Cytidine Deaminase Promoter Predicts Severe Capecitabine-Induced Hand-Foot Syndrome. *Clin Cancer Res.* 1 avr 2011;17(7):2006-13.

59. Loganayagam A, Arenas Hernandez M, Corrigan A, Fairbanks L, Lewis CM, Harper P, et al. Pharmacogenetic variants in the DPYD, TYMS, CDA and MTHFR genes are clinically significant predictors of fluoropyrimidine toxicity. *Br J Cancer.* juin 2013;108(12):2505-15.

60. Conroy T, Hammel P, Hebbar M, Ben Abdelghani M, Wei AC, Raoul J-L, et al. FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer. *New England Journal of Medicine.* 20 déc 2018;379(25):2395-406.

61. Thierry C, Françoise D, Marc Y, Olivier B, Rosine G, Yves B, et al. FOLFIRINOX versus Gemcitabine for Metastatic Pancreatic Cancer. *The New England Journal of Medicine.* 2011;9.

62. Johnson MR, Yan J, Shao L, Albin N, Diasio RB. Semi-automated radioassay for determination of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) activity screening cancer patients for DPD deficiency, a condition associated with 5-fluorouracil toxicity. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.* août 1997;696(2):183-91.

63. Vreken P, Van Kuilenburg ABP, Meinsma R, Smit GPA, Bakker HD, De Abreu RA, et al. A point mutation in an invariant splice donor site leads to exon skipping in two unrelated Dutch patients with dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *J Inher Metab Dis.* sept 1996;19(5):645-54.

64. Johnson MR, Wang K, Diasio RB. Profound dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency resulting from a novel compound heterozygote genotype. *Clin Cancer Res.* mars 2002;8(3):768-74.

65. Henricks LM, Lunenburg CATC, de Man FM, Meulendijks D, Frederix GWJ, Kienhuis E, et al. DPYD genotype-guided dose individualisation of fluoropyrimidine therapy in patients

- with cancer: a prospective safety analysis. *The Lancet Oncology*. nov 2018;19(11):1459-67.
66. Lunenburg CATC, van der Wouden CH, Nijenhuis M, Crommentuijn-van Rhenen MH, de Boer-Veger NJ, Buunk AM, et al. Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene–drug interaction of DPYD and fluoropyrimidines. *Eur J Hum Genet*. avr 2020;28(4):508-17.
 67. Offer SM, Wegner NJ, Fossum C, Wang K, Diasio RB. Phenotypic profiling of DPYD variations relevant to 5-fluorouracil sensitivity using real-time cellular analysis and in vitro measurement of enzyme activity. *Cancer Res*. 15 mars 2013;73(6):1958-68.
 68. 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*. 1 mai 2014;74(9):2545-54.
 69. Shrestha S, Zhang C, Jerde CR, Nie Q, Li H, Offer SM, et al. Gene-Specific Variant Classifier (DPYD-Varifier) to Identify Deleterious Alleles of Dihydropyrimidine Dehydrogenase. *Clin Pharmacol Ther*. oct 2018;104(4):709-18.
 70. van Kuilenburg AB, Muller EW, Haasjes J, Meinsma R, Zoetekouw L, Waterham HR, et al. Lethal outcome of a patient with a complete dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency after administration of 5-fluorouracil: frequency of the common IVS14+1G>A mutation causing DPD deficiency. *Clin Cancer Res*. mai 2001;7(5):1149-53.
 71. Deenen MJ, Tol J, Burylo AM, Doodeman VD, de Boer A, Vincent A, et al. Relationship between Single Nucleotide Polymorphisms and Haplotypes in DPYD and Toxicity and Efficacy of Capecitabine in Advanced Colorectal Cancer. *Clinical Cancer Research*. 15 mai 2011;17(10):3455-68.
 72. 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*. août 2013;14(11):1255-72.
 73. Deenen MJ, Meulendijks D, Cats A, Sechterberger MK, Severens JL, Boot H, et al. Upfront Genotyping of *DPYD* * 2A to Individualize Fluoropyrimidine Therapy: A Safety and Cost Analysis. *JCO*. 20 janv 2016;34(3):227-34.
 74. Henricks LM, Lunenburg CA, Meulendijks D, Gelderblom H, Cats A, Swen JJ, et al. Translating *DPYD* genotype into DPD phenotype: using the *DPYD* gene activity score. *Pharmacogenomics*. juill 2015;16(11):1275-84.
 75. Lee AM, Shi Q, Alberts SR, Sargent DJ, Sinicrope FA, Berenberg JL, et al. 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*. mars 2016;26(3):133-7.
 76. Etienne-Grimaldi M-C, Boyer J-C, Beroud C, Mbatchi L, van Kuilenburg A, Bobin-Dubigeon C, et al. New advances in *DPYD* genotype and risk of severe toxicity under capecitabine. *PLoS One* [Internet]. 8 mai 2017 [cité 8 mars 2020];12(5). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5421769/>
 77. Kleibl Z, Fidlerova J, Kleiblova P, Kormunda S, Bilek M, Bouskova K, et al. Influence of dihydropyrimidine dehydrogenase gene (*DPYD*) coding sequence variants on the development of fluoropyrimidine-related toxicity in patients with high-grade toxicity and patients with excellent tolerance of fluoropyrimidine-based chemotherapy. *neo*. 2009;56(4):303-16.
 78. Ruzzo A, Graziano F, Galli F, Galli F, Rulli E, Lonardi S, et al. Dihydropyrimidine dehydrogenase pharmacogenetics for predicting fluoropyrimidine-related toxicity in the randomised, phase III adjuvant TOSCA trial in high-risk colon cancer patients. *Br J Cancer*. 24 oct 2017;117(9):1269-77.
 79. Del Re M, Cinieri S, Michelucci A, Salvadori S, Loupakis F, Schirripa M, et al. *DPYD**6 plays an important role in fluoropyrimidine toxicity in addition to *DPYD**2A and

- c.2846A>T: a comprehensive analysis in 1254 patients. *Pharmacogenomics J.* 2019;19(6):556-63.
80. Boige V, Vincent M, Alexandre P, Tejpar S, Landolfi S, Le Malicot K, et al. *DPYD* Genotyping to Predict Adverse Events Following Treatment With Fluorouracil-Based Adjuvant Chemotherapy in Patients With Stage III Colon Cancer: A Secondary Analysis of the PETACC-8 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 1 mai 2016;2(5):655.
81. Gamelin E, Boisdron-Celle M, Larra F, Robert J. A Simple Chromatographic Method for the Analysis of Pyrimidines and their Dihydrogenated Metabolites. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies.* nov 1997;20(19):3155-72.
82. Coudoré F, Roche D, Lefeuvre S, Faussot 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. *Journal of Chromatographic Science.* 1 nov 2012;50(10):877-84.
83. Remaud G, Boisdron-Celle M, Hameline C, Morel A, Gamelin E. An accurate dihydrouracil/uracil determination using improved high performance liquid chromatography method for preventing fluoropyrimidines-related toxicity in clinical practice. *Journal of Chromatography B.* sept 2005;823(2):98-107.
84. 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 Letters.* mai 2007;249(2):271-82.
85. Launay M, Ciccolini J, Fournel C, Blanquicett C, Dupuis C, Fakhry N, et al. UPFRONT DPD DEFICIENCY DETECTION TO SECURE 5-FU ADMINISTRATION: PART 2-APPLICATION TO HEAD-AND-NECK CANCER PATIENTS. *Clin Cancer Drugs.* 2017;4(2):122-8.
86. Henricks LM, Jacobs BAW, Meulendijks D, Pluim D, van den Broek D, de Vries N, et al. Food-effect study on uracil and dihydrouracil plasma levels as marker for dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human volunteers: Food effect-study on U and DHU levels. *Br J Clin Pharmacol.* déc 2018;84(12):2761-9.
87. Meulendijks D, van Hasselt JGC, Huitema ADR, van Tinteren H, Deenen MJ, Beijnen JH, et al. 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. *European Journal of Cancer.* févr 2016;54:120-30.
88. Meulendijks D, Henricks LM, Jacobs BAW, Aliev A, Deenen MJ, de Vries N, et al. Pretreatment serum uracil concentration as a predictor of severe and fatal fluoropyrimidine-associated toxicity. *Br J Cancer.* 23 mai 2017;116(11):1415-24.
89. Kuilenburg ABPV, Lenthe H van, Blom MJ, Mul EPJ, Gennip AHV. Profound variation in dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human blood cells: major implications for the detection of partly deficient patients. *Br J Cancer.* févr 1999;79(3-4):620-6.
90. van Staveren MC, Theeuwes-Oonk B, Guchelaar HJ, van Kuilenburg ABP, Maring JG. Pharmacokinetics of orally administered uracil in healthy volunteers and in DPD-deficient patients, a possible tool for screening of DPD deficiency. *Cancer Chemother Pharmacol.* déc 2011;68(6):1611-7.
91. Mattison LK. Rapid Identification of Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency by Using a Novel 2-13C-Uracil Breath Test. *Clinical Cancer Research.* 15 avr 2004;10(8):2652-8.
92. Antunes MV, Raymundo S, Cezimbra da Silva AC, Muller VV, Vicente Neto OJ, Schwartzmann G, et al. Determination of Endogenous Concentrations of Uracil and Dihydrouracil in Dried Saliva Spots by LC-MS/MS: Method Development, Validation, and Clinical Application. *Therapeutic Drug Monitoring.* juin 2019;41(3):383-90.
93. Mattison LK. The Uracil Breath Test in the Assessment of Dihydropyrimidine

Dehydrogenase Activity: Pharmacokinetic Relationship between Expired ^{13}C and Plasma $[2-^{13}\text{C}]$ Dihydrouracil. *Clinical Cancer Research*. 15 janv 2006;12(2):549-55.

94. Toffoli G, Giodini L, Buonadonna A, Berretta M, De Paoli A, Scalone S, et al. Clinical validity of a *DPYD*-based pharmacogenetic test to predict severe toxicity to fluoropyrimidines: *DPYD* Polymorphisms and Fluoropyrimidines Toxicity. *Int J Cancer*. 15 déc 2015;137(12):2971-80.

95. Etienne-Grimaldi M-C, Cozic N, Boyer J-C, Boige V, Diasio RB, Taieb J, et al. FUSAFE individual patient data meta-analysis (MA) to assess the performance of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) gene polymorphisms for predicting grade 4-5 fluoropyrimidine (FP) toxicity. *Annals of Oncology*. oct 2019;30:v214.

96. Loriot M-A, Ciccolini J, Thomas F, Barin-Le-Guellec C, Royer B, Milano G, et al. Dépistage du déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) et sécurisation des chimiothérapies à base de fluoropyrimidines : mise au point et recommandations nationales du GPCO-Unicancer et du RNPx. *Bulletin du Cancer*. avr 2018;105(4):397-407.

97. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, Sobrero A, Van Krieken JH, Aderka D, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Annals of Oncology*. août 2016;27(8):1386-422.

98. Deenen MJ, Meulendijks D. Recommendation on testing for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency in the ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Annals of Oncology*. janv 2017;28(1):184.

99. Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, Cederquist L, Chen Y-J, Ciombor KK, et al. NCCN Guidelines Insights: Colon Cancer, Version 2.2018. *J Natl Compr Canc Netw*. avr 2018;16(4):359-69.

100. Amstutz U, Henricks LM, Offer SM, Barbarino J, Schellens JHM, Swen JJ, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther*. févr 2018;103(2):210-6.

101. Shin J-G, Cheong HS, Kim JY, Kim LH, Han CS, Kim JO, et al. Screening of Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genetic Variants by Direct Sequencing in Different Ethnic Groups. *J Korean Med Sci*. 2013;28(8):1129.

102. Boisdron-Celle M, Capitain O, Faroux R, Borg C, Metges JP, Galais MP, et al. Prevention of 5-fluorouracil-induced early severe toxicity by pre-therapeutic dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency screening: Assessment of a multiparametric approach. *Seminars in Oncology*. févr 2017;44(1):13-23.

103. Marin C, Krache A, Palmaro C, Lucas M, Hilaire V, Ugdonne R, et al. A simple and rapid UPLC-UV method for determining DPD functional status in patients with cancer. *Clinical and Translational Science* [Internet]. [cité 8 mars 2020];n/a(n/a). Disponible sur: <https://ascpt.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/cts.12762>

104. Sistonen J, Büchel B, Froehlich TK, Kummer D, Fontana S, Joerger M, et al. Predicting 5-fluorouracil toxicity: DPD genotype and 5,6-dihydrouracil:uracil ratio. *Pharmacogenomics*. sept 2014;15(13):1653-66.

105. Amstutz U, Farese S, Aebi S, Largiadèr CR. Dihydropyrimidine dehydrogenase gene variation and severe 5-fluorouracil toxicity: a haplotype assessment. *Pharmacogenomics*. juin 2009;10(6):931-44.

106. Schwab M, Zanger UM, Marx C, Schaeffeler E, Klein K, Dippon J, et al. Role of Genetic and Nongenetic Factors for Fluorouracil Treatment-Related Severe Toxicity: A Prospective Clinical Trial by the German 5-FU Toxicity Study Group. *JCO*. 1 mai 2008;26(13):2131-8.

107 : Recherche de déficit en dihydropyrimidine déshydrogenase en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines (5-fluorouracile), Recommandations et référentiels, INCa, HAS, décembre 2018.

VII Annexes :

Annexe 1: rapport de 2016 du GPCO et du RNPgX sur la recherche de déficit en DPD



Dépistage du déficit en dihydropyrimidinedehydrogénase (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 deshydrogénase (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-Unicancer et du RNP GX

Sur la base des éléments bibliographiques et des pratiques actuelles développées en France (voir Annexe jointe), le groupe GPCO-Unicancer et le réseau RNP GX 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-Unicancer et par le RNP GX 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 (RNP GX), 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 évaluables 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 déficients traités par une posologie standard en 5FU.



RÉSEAU NATIONAL DE PHARMACOGÉNÉTIQUE

- 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 Clin Pharmacol. 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

Professeur Marie-Anne LORIOT
Présidente du Réseau National de Pharmacogénétique



IV- Références

- Bocci G, Barbara C, Vannozi 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, Loriot 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, Palle 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, Merliin 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, Stuessler 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, Cargnini 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.

Annexe 2: Note d'information de la direction générale de la santé en avril 2019.



Ministère des solidarités et de la santé

12 AVR. 2019

Direction générale de la santé

Sous-direction politique des produits de santé et
qualité des pratiques et des soins

Le directeur général de la santé

La directrice générale de l'offre de soins

à

Direction générale de l'offre de soins

Sous-direction du pilotage de la performance
des acteurs de l'offre de soins
Bureau qualité et sécurité des soins
Eliane Maaliki/ Sylvie Renard Dubois
Tel : 01 40 56 77 43

Mesdames et Messieurs les directeurs généraux
des agences régionales de santé (pour diffusion)

Mesdames et Messieurs les directeurs des
établissements de santé disposant d'activités
autorisées à la cancérologie (pour mise en œuvre)

Monsieur le directeur général de la caisse nationale
d'assurance maladie (pour information)

Monsieur le directeur général de la caisse centrale
de la mutualité sociale agricole (pour information)
Monsieur le directeur général de l'Union nationale
des caisses d'assurance maladie (pour information)

NOTE D'INFORMATION N° DGS /PP2/DGOS/PF2/PF4 du 19 mars 2019 relative à la nécessité de mesurer l'uracilémie, chez les patients dont l'activité en DPD n'est pas connue, avant tout traitement par des fluoropyrimidines (5 FU, capécitabine).

Inscrit pour information à l'ordre du jour du CNP du 19 mars 2019 – N ° 21

Publiée au BO : non

Déposée sur le site circulaire.legifrance.gouv.fr : non

Catégorie : Directives adressées par le ministre aux services chargés de leur application, sous réserve, le cas échéant, de l'examen particulier des situations individuelles.

Résumé :

En février 2018, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) a préconisé la recherche systématique d'un déficit en dihydropyridine deshydrogenase (DPD) pour tout patient concerné par une chimiothérapie intégrant une fluoropyrimidine afin d'éviter certaines toxicités très graves chez des patients déficitaires en DPD, enzyme qui contribue à l'élimination par l'organisme de ces médicaments.

L'Institut national du cancer (INCa) et la Haute Autorité de santé (HAS) ont publié des recommandations sur les modalités de recherche de ce déficit en enzyme DPD, dans le cadre de chimiothérapies comportant une fluoropyrimidine. En pratique, depuis le 18 décembre 2018, l'INCa et la HAS recommandent la mesure de l'uracilémie. Cependant la prise en compte de ces recommandations semble variable et hétérogène selon les établissements de santé.

Les ARS sont donc sollicitées pour relayer cette information et proposer des mesures concrètes à mettre en œuvre dans les services utilisateurs des fluoropyrimidines (5-FU et capécitabine). Ces informations concernent les prescripteurs de 5-FU et de capécitabine (oncologues, cancérologues et hématologues), les biologistes médicaux, les pharmaciens de PUI et les infirmiers chargés de l'administration de ces médicaments.

| |
|--|
| L'ARS informera également les pharmaciens d'officines, où la capécitabine peut être dispensée, des mesures qui leur sont applicables. |
| Mots-clés : uracilémie – déficit DPD – phénotypage – 5-Fluorouracile – capécitabine – fluoropyrimidines - oncologues – cancérologues - hématologues – pharmaciens – infirmiers – biologistes médicaux |
| Textes de référence : <ul style="list-style-type: none"> – Décision n°2018.0214/DC/SEAP du 28 novembre 2018 du collège de la HAS adoptant le rapport intitulé « Recommandations dédiées à la réalisation d'une recherche de déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase en vue de prévenir certaines toxicités sévères survenant sous traitement comportant des fluoropyrimidines (5-fluorouracile ou capécitabine) » – Avis n°2018.0053/AC/SEAP du 28 novembre 2018 du collège de la HAS relatif à l'inscription sur la LAP mentionnée à l'article L. 162-1-7 du CSS de méthodes de recherche d'un déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase |
| Annexes : <p style="margin-left: 40px;">ANNEXE 1 – Fiche synthétique INCa/HAS</p> <p style="margin-left: 40px;">ANNEXE 2 – Listes des médicaments concernés</p> |
| Diffusion : ARS aux établissements de santé et officines de pharmacie |

1. Contexte

Chaque année en France, près de 80 000 personnes atteintes d'un cancer – principalement digestif, du sein ou ORL – sont traitées par une chimiothérapie à base de fluoropyrimidines - 5-fluorouracile dit 5-FU ou capécitabine (Xeloda® et génériques) - médicaments utilisés seuls ou en combinaison avec d'autres anticancéreux.

Les fluoropyrimidines peuvent entraîner des toxicités sévères chez 1 patient sur 5, voire des décès (entre 1 patient sur 100 et 1 patient sur 1000). Une partie de ces toxicités est liée à un déficit d'activité de la principale enzyme permettant l'élimination de ces médicaments, appelée dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD). Celui-ci peut être partiel (3 à 5 % des patients) ou total (entre 0,01 % et 0,5 % des patients).

Pour éviter certaines de ces toxicités, l'ANSM s'est prononcée en février 2018 en faveur de la recherche systématique de ce déficit chez tous les patients devant recevoir une chimiothérapie utilisant les fluoropyrimidines.

Pour compléter cette première décision, l'INCa et la HAS ont réalisé un travail d'évaluation des examens sanguins disponibles et publié des recommandations sur l'examen à réaliser et sur la conduite thérapeutique à tenir en fonction des résultats du patient. A ce jour, l'examen le plus à même de répondre à ces objectifs est la mesure de l'uracilémie, concentration plasmatique de l'uracile.

Dans ce contexte et dans l'attente d'une évolution éventuelle du résumé des caractéristiques du produit (RCP) et notamment des conditions de prescription et de dispensation (CPD) des spécialités concernées, il convient que l'ensemble des dispositions contribuant à la mise en œuvre de ces recommandations soient prises dans les meilleurs délais et que les professionnels de santé soient informés en conséquence.

2. Prise en charge financière de l'uracilémie

Le dosage de l'uracile plasmatique n'est à ce jour pas inscrit à la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM). Son inscription devrait être effective à la fin du premier semestre 2019. Dans cette attente, la mesure de l'uracilémie¹ est inscrite sur la liste complémentaire des actes hors nomenclature de biologie médicale et d'anatomopathologie et peut à ce titre être financée de façon dérogatoire pour les patients hospitalisés et en actes et consultations externes (ACE). Si le patient est assuré social, aucune facture ne doit lui être adressée. Pour les dosages réalisés sur prescription d'un praticien de ville, il n'y a à ce jour pas de financement dérogatoire prévu.

3. Amélioration des pratiques professionnelles

La recherche d'un déficit en DPD par mesure d'uracilémie doit être réalisée une fois chez tous les patients dont l'activité en DPD n'est pas connue. Il s'agira donc d'effectuer cette mesure chez tous les nouveaux patients avant instauration d'une première chimiothérapie comportant une fluoropyrimidine et chez tous les patients ayant déjà été traités par fluoropyrimidine mais chez lesquels une recherche de déficit en DPD n'a jamais été entreprise.

Une absence de déficit en DPD ne signifie pas que le patient soit préservé de toutes toxicités sévères lors d'une cure de chimiothérapie. En effet, les fluoropyrimidines, ainsi que les médicaments qui leur sont associés pendant les cures, peuvent provoquer des effets indésirables indépendamment de l'activité de l'enzyme DPD.

Par conséquent, la surveillance des cures de chimiothérapie et le suivi des patients doivent être effectués avec un niveau de vigilance maintenu, quels que soient les résultats de la mesure de l'uracilémie.

La prescription et la délivrance et l'administration d'une fluoropyrimidine sont subordonnées à l'obtention du résultat de la recherche d'un déficit en DPD par mesure de l'uracilémie. Le prescripteur mentionne sur la prescription qu'il a tenu compte du résultat de ce dosage.

Nous vous prions de bien vouloir informer les professionnels de santé concernés : les prescripteurs (oncologues, cancérologues et hématologues), les biologistes médicaux, les pharmaciens et les infirmiers (chargés de l'administration de ces médicaments) afin que chacun en ce qui le concerne mette en place les dispositions suivantes :

1. Prévoir dans les réunions de concertation pluridisciplinaire (RCP), l'intégration du dosage de l'uracilémie afin de définir la conduite à tenir et la prise en charge thérapeutique (protocole, posologies etc.). Le résultat devra être enregistré dans le dossier du patient afin qu'il puisse être pris en compte tout au long de la prise en charge du patient, y compris lors des changements de protocoles thérapeutiques. Dans l'attente de l'inscription de cette analyse à la nomenclature, il conviendra également de préciser les modalités de financement dérogatoire de cet acte dans chacune des structures de prise en charge des patients.

¹ « Dosage de l'activité de la dihydropyridine deshydrogenase par une méthode chromatographique pour ajustement d'un traitement par fluoropyrimidines (ex : 5-fluorouracile) »

2. Actualiser les protocoles de chimiothérapies des services utilisateurs de fluoropyrimidines (5-FU et capécitabine) en y intégrant la nécessité de réaliser une uracilémie chez tous les patients dont le déficit en DPD n'est pas connu.
3. Respecter les conditions pré-analytiques et la technique de dosages recommandées telles qu'elles sont mentionnées dans la fiche de synthèse en annexe 1.
4. Inscrire systématiquement la mention « résultats uracilémie pris en compte», sur la prescription de 5 FU ou de capécitabine, lorsque c'est le cas. Cette mention facilitera le contrôle effectué par le pharmacien (hospitalier ou d'officine) en vue de la dispensation et par l'infirmier au moment de l'administration, lorsque l'intervention de celui-ci est requise.
5. Informé le patient que la mesure de l'uracilémie est faite à partir d'une prise de sang qui doit être réalisée rapidement afin que les résultats parviennent au clinicien au plus tard dans les 7 à 10 jours.
6. Vérifier, lors de la dispensation des médicaments contenant du 5-FU ou de la capécitabine que la mesure de l'uracilémie a été réalisée et que les résultats ont été pris en compte par le prescripteur.
7. Vérifier, avant d'administrer un traitement par 5-FU ou par capécitabine, qu'une mesure de l'uracilémie a été réalisée et que les résultats ont été pris en compte par le prescripteur.

Nous vous remercions de bien vouloir nous informer de toutes difficultés que vous rencontreriez dans la diffusion de cette note d'information.

La directrice générale de l'offre de soins

Cécile COURREGES



Le directeur général de la santé

Pr. Jérôme SALOMON



Annexe 3: consentement en vue d'un examen génétique à des fins médicales demandé pour un génotypage DPD au CHRU de Lille

CONSENTEMENT EN VUE D'UN EXAMEN DES CARACTERISTIQUES GENETIQUES A DES FINS MEDICALES ET LA CONSERVATION DES ECHANTILLONS DANS UNE BANQUE D'ADN OU UN CENTRE DE RESSOURCES BIOLOGIQUES

| IDENTIFICATION DU PATIENT | IDENTITE DU REPRESENTANT LEGAL |
|----------------------------|--|
| NOM | <input type="checkbox"/> Titulaire de l'autorité parentale <input type="checkbox"/> Tuteur |
| Prénom | NOM : |
| Nom de jeune fille : | Prénom : |
| Date de naissance : | Date de naissance : |

Je soussigné(e), Mme, Mr déclare avoir bénéficié d'une consultation auprès du Dr et avoir été informé(e) de la nature des examens des caractéristiques génétiques qui seront réalisés :

Chez moi-même

Chez mon enfant mineur ou la personne dont je suis tuteur : NOM..... Prénom :

Les examens génétiques demandés concernent la maladie (ou groupe de maladies) suivante(s):

Je reconnais avoir reçu l'ensemble des informations me permettant la compréhension des conditions de réalisation, des limites et de la finalité de cet acte biologique et des conséquences des résultats pour moi-même, mon enfant mineur ou la personne dont je suis tuteur et éventuellement la famille.

Je donne mon consentement pour la réalisation de ces analyses mais à tout moment, je peux demander que l'étude génétique soit interrompue ou que les résultats ne me soient pas communiqués.

J'autorise le recueil, la saisie et le traitement informatique des données médicales nécessaires à cet examen.

J'autorise la conservation au laboratoire du matériel biologique issu du prélèvement mais à tout moment, je peux en demander la destruction. Dans ce cas, j'en informerai le médecin désigné ci-dessus.

Le résultat est confidentiel. Il me sera rendu et expliqué en consultation par le médecin qui l'a prescrit.

J'ai compris que si une anomalie génétique responsable d'une prédisposition ou d'une affection grave était mise en évidence, je devrai permettre la transmission de cette information aux apparentés potentiellement concernés. J'ai été averti que mon silence pouvait leur faire courir des risques ainsi qu'à leur descendance, dès lors que des mesures de prévention, y compris de conseil génétique ou de soins peuvent être proposées. Ainsi, lors du rendu de résultat, je devrai choisir entre : 1) Assurer moi-même la diffusion de l'information 2) Autoriser le médecin prescripteur à diffuser l'information génétique aux membres de la famille potentiellement concernés.

| | |
|---|---|
| J'accepte , si mes résultats, ceux de mon enfant mineur ou de la personne dont je suis tuteur apparaissent médicalement essentiels pour les apparentés, qu'ils puissent être utilisés dans leur intérêt, y compris après mon décès, celui de mon enfant mineur ou la personne dont je suis tuteur. | <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON |
| J'accepte , si le diagnostic restait en suspens, l'utilisation ultérieure des échantillons biologiques pour d'autres analyses génétiques à visée diagnostique en fonction des progrès et des connaissances. | <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON |
| Au cas où l'analyse réalisée révélerait une caractéristique génétique sans lien avec la raison pour laquelle elle est prescrite, je souhaite en être informé, si en l'état actuel des connaissances, ces résultats peuvent avoir une conséquence pour ma santé, celle de mon enfant mineur ou la personne dont je suis tuteur. | <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON |
| J'autorise le stockage et l'utilisation pour la recherche scientifique, du prélèvement après la réalisation des analyses à visée diagnostique, sans que l'on doive me recontacter. | <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON |

Fait à le SIGNATURE du patient ou de son représentant légal

ATTESTATION DE CONSULTATION MEDICALE INDIVIDUELLE


| ATTESTATION DU MEDECIN PRESCRIPTEUR | Signature et cachet : |
|---|-----------------------|
| Nom, Prénom du médecin prescripteur : | |
| certifie avoir informé le patient sus nommé sur les caractéristiques de la maladie recherchée, les moyens de la détecter, les possibilités de prévention et de traitement, et avoir recueilli le consentement du patient dans les conditions du code de la santé publique (article n°R1131-4 et 5). | |

Rappel concernant la législation fixant les conditions de prescription et de réalisation des examens des caractéristiques génétiques d'une personne : Le médecin prescripteur doit conserver le consentement écrit, les doubles de la prescription et de l'attestation et les comptes rendus d'analyses de biologie médicale commentés et signés. Le laboratoire agréé réalisant les examens doit disposer de la prescription et de l'attestation du prescripteur, adresser le compte rendu d'analyse de biologie médicale commenté et signé par un praticien responsable agréé, exclusivement au médecin prescripteur des examens génétiques.

Loi n°2011-814 du 7/07/2011 relative à la bioéthique ; **décret 2013-527 du 20 juin 2013** relatif aux conditions de mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à des fins médicales ; **loi 78-17 du 6 janvier 1978** relative à l'informatique et aux libertés. **Arrêté du 27 mai 2013** définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales.

Les règles de bonnes pratiques de prescription d'une analyse génétique sont consultables sur le site du PBPG : <http://biologiepathologie.chru-lille.fr/documents/127870.html>

Annexe 4: Fiche d'enregistrement à remplir par le laboratoire pour la prescription d'un phénotypage ou d'un génotypage au CHRU de Lille

| | | |
|---|--|---------------------------------------|
|  | FICHE D'ENREGISTREMENT | PRA-FE-TOX-683 |
| POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE | ORDONNANCE DE PRESCRIPTION DEFICIT EN DPD | V : 3 |
| <i>INSTITUT DE BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE Biochimie - Toxicologie 9606</i> | | Applicable au : 22/02/2018 |
| | | Page 1 sur 1 |

À faire parvenir avec les prélèvements au :

Service de Toxicologie et Génomopathies – Pr Franck BROLY
Centre de Biologie Pathologie – 2^e étage - Boulevard du Pr Jules Leclercq - 59037 LILLE Cedex
Téléphone : 03 20 44 48 01 Fax : 03 20 44 59 57

| <u>IDENTIFICATION DU PATIENT</u> | <u>SERVICE DEMANDEUR</u> |
|--|--|
| NOM : | Médecin Prescripteur : Dr |
| Prénom : | Téléphone : |
| Nom de jeune fille : | Fax pour envoi des résultats : |
| Date de naissance : Sexe : | Adresse complète et/ou cachet du demandeur : |
| Référence dossier : | |
| Prélèvement : | |
| Date : Heure : | |
| Nom Préleveur : | |

Analyses demandées (cocher les cases correspondantes)

| <input type="checkbox"/> Génotype DPYD : | <input type="checkbox"/> Phénotype DPD : |
|---|---|
| Recherche des mutations impliquées dans le déficit d'activité de la DPD par séquençage du gène DPYD | Mesure de l'activité enzymatique par calcul du rapport UH2/U plasmatique |
| Prélèvement : 2 tubes EDTA sang total (5 mL) | Prélèvement : 1 tube de 5 mL EDTA (ou Héparinate de Lithium) 1. Centrifugation immédiate (≤ 30 min après le prélèvement) à 4°C de l'échantillon (10 min à 1500g) 2. Décantation du plasma (tube à hémolyse – minimum 1,5 mL) 3. Congélation du plasma à -20°C jusqu'à analyse |
| Acheminement : T° ambiante | Acheminement : à -20°C |
| Documents à joindre au prélèvement : <input checked="" type="checkbox"/> Ce bon de demande complété <input checked="" type="checkbox"/> Consentement signé par le médecin et le patient | Documents à joindre au prélèvement : <input checked="" type="checkbox"/> Ce bon de demande complété |

Horaires de réception du laboratoire : du lundi au vendredi de 8h00 à 18h00

Indications de la recherche du déficit en DPD :

- Dépistage avant traitement par 5-fluoro-uracile ou capécitabine (Xeloda®)
- Recherche suite à une toxicité apparue sous traitement
 - 5-fluoro-uracile
 - Capécitabine (Xeloda®)

Renseignements cliniques :

Dernière administration du 5-fluoro-uracile ou capécitabine (Xeloda®) :

Date : Dose :

Date de prochaine consultation :/...../.....

Date et signature du prescripteur :

Cadre réservé au laboratoire CHRU

Etiquette Labo

Annexe 5: Résultat type de recherche de déficit DPD par méthode combinée phénotype + génotype au CHRU de Lille.

Nom :
Prénom :
Date de naissance :
Motif de prescription : Recherche d'un déficit d'activité de la DPD dans le cadre d'une chimiothérapie par fluoropyrimidine
Date de prélèvement :
Date de réception du prélèvement :
Notre référence :

Nous avons extrait l'ADN des prélèvements sanguins qui nous sont parvenus pour votre patient. Ces échantillons nous ont permis de rechercher les mutations délétères les plus fréquentes du gène de la dihydropyrimidine deshydrogénase (DPYD). Ces échantillons nous ont également permis de mesurer les concentrations plasmatiques en Uracil (U) et DiHydroUracil (UH₂), de manière à calculer le ratio UH₂/U, considéré comme un reflet de l'activité de l'enzyme DPD.

Résultats :

Séquençage DPYD : Compatible avec une activité normale de la DPD

Activité DPD : Activité partiellement déficitaire

Ratio UH₂/U : 12,9 – Uracilémie : 21,1 ng/mL

Au total, l'activité enzymatique de la DPD mesurée dans l'échantillon reçu est partiellement déficitaire. Cependant, aucun variant délétère n'a été identifié chez ce patient avec la technique analytique de séquençage employée.

Une réduction d'au moins 50% de la dose à l'introduction du traitement par fluoropyrimidine (5-FU / capécitabine) est recommandée pour ce patient, avec adaptation posologique ultérieure en fonction de la tolérance au traitement.

A noter, par ailleurs, que les résultats des analyses que nous avons effectuées mettent en évidence un génotype **UGT1A1 (*28/*28)** responsable d'une diminution de l'activité de cet enzyme, et **d'une susceptibilité accrue à l'irinotécan**. Une diminution posologique de l'irinotécan est à prévoir en cas d'utilisation de cet antinéoplasique, selon les recommandations des groupes RNPg_x et GPCO (« *UGT1A1 genotype and irinotecan therapy: General review and implementation in routine practice* », Fundamental & clinical pharmacology (2015)).

Restant à votre disposition pour d'éventuels renseignements complémentaires, je vous prie d'agréer, cher confrère, l'expression de mes sentiments les meilleurs.

Annexe 6: Synopsis de l'étude.

| | |
|---|--|
| TITRE | Evaluation rétrospective de la recherche de déficit en DPD par phénotypage (uracilémie et rapport U/UH2) et génotypage par séquençage complet du gène dans les départements du Nord et du Pas-de-Calais. |
| PROMOTEUR | Centre Oscar Lambret |
| COORDINATEUR <i>Porteur du projet</i> | Centre Oscar Lambret – Dr A. CARNOT Interne Côte de Metz |
| TYPE D'ETUDE | Rétrospective multicentrique |
| OBJECTIF PRINCIPAL | Evaluer l'utilité clinique de la technique de dépistage combiné du déficit en DPD par la proportion de patients nécessitant une réduction secondaire de la dose de 5FU ou Capécitabine. |
| CRITERES D'EVALUATION | <p><u>Principal</u> : Réduction (ou report) de dose de 5FU (bolus ou infusion) ou de capécitabine au 2^e cycle de chimiothérapie (C2).</p> <p><u>Secondaires</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - toxicités après le 1^{er} cycle de chimiothérapie : hématologique et extra hématologique. - délais entre la prescription, la date du compte rendu et la date de la première cure. - adéquation entre doses recommandées à C1 et doses prescrites - taux de discordance génotypage/phénotypage. - taux de majoration des doses à C2 si diminution initiale devant un déficit en DPD suspecté et en cas de bonne tolérance clinique. |
| OBJECTIFS SECONDAIRES | <ul style="list-style-type: none"> - Etablir l'incidence des déficits partiels retrouvés dans notre population - Estimer l'incidence des toxicités spécifiques du 5FU en fonction du profil (déficit partiel versus pas de déficit versus non documenté) et de la dose de 5FU/Capécitabine administrée - Evaluer les pratiques actuelles en termes d'implémentation des recommandations de dépistage : estimer la proportion de dépistage systématique, et de dépistage conforme aux recommandations qui étaient en vigueur en 2018 (phénotypage et génotypage), ainsi que les principales raisons de non dépistage. - Décrire les modifications de dose de chimiothérapie en fonction des résultats du dépistage éventuel et des toxicités observées, ou de l'absence de toxicité (ex : majoration des doses à C2 en cas de bonne tolérance du traitement chez un patient étiqueté comme déficitaire) |

| | |
|---|---|
| CRITERES D'INCLUSION | <ul style="list-style-type: none"> - Patient > 18 ans - Primo-prescription de chimiothérapie à base de fluoropyrimidine - Ayant eu au moins une cure de chimiothérapie à base de 5FU - période du 1^{er} mars 2018 (date de publication de recommandations de dépistage systématique) au 28 février 2019 - ayant donné sa non opposition à l'utilisation de ses données médicales (pour tous) - patient ayant donné son consentement pour l'utilisation de leurs données génétiques (pour les patients dépistés) |
| CRITERES DE NON INCLUSION | Absence de primo prescription de fluoropyrimidine entre le 01/03/2018 et le 28/02/2019 |
| ESTIMATION DU POTENTIEL D'INCLUSIONS | 2500 patients ont eu une recherche de déficit en DPD sur la plateforme de toxicologie du CHRU de Lille entre l'été 2017 et février 2019 |
| HYPOTHESE STATISTIQUE | Analyse descriptive selon les techniques habituelles d'un essai rétrospectif |
| NOMBRE DE PATIENTS | 500 patients |
| DUREE PREVISIBLE DE L'ETUDE | 6 mois |
| CALENDRIER PREVISIONNEL AVEC DATE DE DEBUT ET DE FIN | <ul style="list-style-type: none"> - Début de recueil des données : avril 2019 - Date de fin de la recherche : octobre 2019 - Analyses statistiques : fin 2019 - Mémoire de DES : juin 2020 |
| TUTEUR | Dr A. CARNOT, Centre Oscar Lambret, Lille |
| FINANCEMENT | Aucun |
| ASPECTS REGLEMENTAIRES | Étude conforme à la MMR04 du centre Oscar Lambret |

Annexe 7: Détail des toxicités tout grade entre C1 et C2 de chimiothérapie dans la population étudiée.

| Variable | Effectif | Fréquence |
|----------------------------|----------|-----------|
| Anémie | | |
| Grade 1 | 74 | 12.4% |
| Grade 2 | 53 | 8.9% |
| Grade 3 | 15 | 2.5% |
| Grade 4 | 0 | 0.0% |
| Grade 5 | 0 | 0.0% |
| Aucune | 416 | 69.7% |
| Données manquantes | 39 | 6.5% |
| Neutropénie | | |
| Grade 1 | 24 | 4.0% |
| Grade 2 | 26 | 4.4% |
| Grade 3 | 19 | 3.2% |
| Grade 4 | 22 | 3.7% |
| Aucune | 466 | 78.1% |
| Données manquantes | 40 | 6.7% |
| Neutropénie fébrile | | |
| Aucune | 466 | 78,1% |
| Grade 5 | 2 | 0,3% |
| Données manquantes | 129 | 21,6% |
| Thrombopénie | | |
| Grade 1 | 48 | 8.0% |

| | | |
|---------------------------|-----|-------|
| Grade 2 | 8 | 1.3% |
| Grade 3 | 4 | 0.7% |
| Grade 4 | 4 | 0.7% |
| Aucune | 494 | 82.7% |
| Données manquantes | 39 | 6.5% |
| Mucite | | |
| Grade 1 | 43 | 7.2% |
| Grade 2 | 12 | 2.0% |
| Grade 3 | 2 | 0.3% |
| Grade 4 | 0 | 0.0% |
| Grade 5 | 0 | 0.0% |
| Aucune | 232 | 38.9% |
| Données manquantes | 308 | 51.6% |
| Colite | | |
| Grade 5 | 2 | 0.3% |
| Données manquantes | 595 | 99.7% |
| Syndrome main pied | | |
| Grade 1 | 12 | 2.0% |
| Grade 2 | 2 | 0.3% |
| Grade 3 | 1 | 0.2% |
| Aucun | 186 | 31.2% |
| Données manquantes | 396 | 66.3% |
| Diarrhées | | |
| Grade 1 | 104 | 17.4% |

| | | |
|-----------------------|-----|-------|
| Grade 2 | 40 | 6.7% |
| Grade 3 | 13 | 2.2% |
| Grade 4 | 4 | 0.7% |
| Grade 5 | 0 | 0.0% |
| Aucun | 280 | 46.9% |
| Données manquantes | 156 | 26.1% |
| Perte de poids | | |
| Grade 1 | 108 | 18.1% |
| Grade 2 | 13 | 2.2% |
| Grade 3 | 0 | 0.0% |
| Aucune | 423 | 70.9% |
| Données manquantes | 53 | 8.9% |
| Asthénie | | |
| Grade 1 | 134 | 22.4% |
| Grade 2 | 71 | 11.9% |
| Grade 3 | 19 | 3.2% |
| Aucune | 189 | 31.7% |
| Données manquantes | 184 | 30.8% |
| Nausées | | |
| Grade 1 | 127 | 21.3% |
| Grade 2 | 43 | 7.2% |
| Grade 3 | 16 | 2.7% |
| Aucune | 258 | 43.2% |
| Données manquantes | 153 | 25.6% |

| Vomissements | | |
|---------------------|-----|-------|
| Grade 1 | 41 | 6.9% |
| Grade 2 | 21 | 3.5% |
| Grade 3 | 12 | 2.0% |
| Grade 4 | 0 | 0.0% |
| Grade 5 | 0 | 0.0% |
| Aucune | 358 | 60.0% |
| Données manquantes | 165 | 27.6% |

AUTEUR : Nom : de Metz

Prénom : Côme

Date de soutenance : tente octobre deux mille vingt

Titre de la thèse : Évaluation du dépistage combiné par phénotypage associé au génotypage à la recherche d'un déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase chez les patients recevant une primo prescription de fluoropyrimidine : apport du séquençage complet du gène DPYD par NGS.

Thèse - Médecine – Lille 2020

Cadre de classement : *oncologie.*

DES + spécialité : *oncologie*

Mots-clés : fluoropyrimidine, génotypage DPYD, phénotypage DPD

Résumé :

Objectifs : Notre étude, rétrospective et multicentrique, s'est intéressée à analyser les données cliniques comme les toxicités et les modifications de doses de chimiothérapie à la deuxième cure de chimiothérapie chez des patients traités pour la première fois par un protocole comportant une fluoropyrimidine sur une période définie d'un an.

Matériels et Méthodes : Il s'agit d'une cohorte de patient français, provenant de deux départements du nord de la France, dont les prélèvements ont été analysés par la plateforme de toxicologie et de biologie moléculaire du CHRU de Lille. Le critère de jugement primaire a été défini comme la modification de dose de fluoropyrimidine à la deuxième cure de chimiothérapie. Les objectifs secondaires comprenaient l'analyse des grades de toxicité entre la première et la deuxième cure en fonction du type de dépistage réalisés ainsi qu'un des données descriptives de la population.

Résultats : Les données cliniques rétrospectives de 597 patients ont été récupérées dans 6 centres différents des deux départements français du nord et du Pas-de-Calais. Les patients inclus avaient reçu une chimiothérapie ou une polychimiothérapie entre le 1^{er} mars 2018 et le 28 février 2019. Ces données ont permis de classer les patients dans 4 groupes : dépistage combiné, dépistage par phénotypage uniquement, dépistage par génotypage uniquement, absence de dépistage. Il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les groupes concernant le critère de jugement principal ou en comparant les grades de toxicité 3 ou 4.

Conclusion : Notre étude n'a pas pu mettre en évidence de différence de modification de dose à la deuxième cure de chimiothérapie chez les patients ayant bénéficié du dépistage combiné en déficit en DPD comprenant un séquençage complet du gène DPYD.

Composition du Jury :

Président : Professeur Nicolas Penel

Asseseurs : Professeur Éric Lartigau, Professeur Jean-Louis Cazin, Docteur Benjamin Hennart

Directeur de thèse : Docteur Carnot