

Detectie van vier varianten DPYD voor 5-FU behandeling

Iris van Dal, Max van Kraaij, Colin Elings, Eric van Vught

2-3-2021

5-Fluoruracil is een van de meest gebruikte cytostatische geneesmiddelen ter behandeling van verschillende soorten kanker. De stof FU wordt grotendeels omgezet door het enzym DPD. Als FU niet kan worden omgezet door DPD-deficiëntie zijn er grote gevolgen voor de patiënt. Daarom wordt aangeraden om op voorhand een screening te doen. Er zijn zelfs testen waarbij alle vier de varianten op één test te detecteren zijn.

Jaarlijks sterven er ruim 40.000 mensen aan de ziekte kanker, ondanks de vele ontwikkelingen op het gebied van oncologie [1]. Er zijn veel verschillende soorten kanker en hierbij ook veel verschillende behandelingen. Eén van deze behandelingen is met 5-Fluoruracil (FU). De werkzame stof fluoruracil wordt bij borstkanker, kanker van de (slok)darm, maag, alvleesklier, lever, baarmoeder, eierstokken, vagina, blaas en huid toegediend als een infuus [2]. Bij huidkanker of huidaandoeningen die later over kunnen gaan in kanker wordt er een crème gebruikt met FU erin.

Werking 5-FU

5-FU is een antimetabool van het natuurlijk voorkomend pyrimidine-uracil. Na indiening dringt het snel de cellen binnen via hetzelfde transportmechanisme als uracil [3]. In Figuur 1 is de metabole pathway van 5-FU te zien. Er is aangetoond dat door het enzym dehydropyrimidine dehydrogenase (DPD) 80 tot 85% van 5-FU gekataboliseerd wordt naar inactieve metabolieten [4], [5]. DPD is een enzym dat aanwezig is in de lever, darmslijmvlies en nog andere soorten weefsel. Het enzym kataboliseert 5-FU tot dihydro-5-fluoruracil (DHFU) wat vervolgens leidt tot de vorming van α -fluor- β -ureido-propionzuur en α -fluor- β -alanine (FBAL), inactieve metabolieten. Door het anabolisme van 5-FU wordt maar 1 tot 3% van de originele dosis van 5-FU omgezet in actieve metabolieten die cytotoxische effecten hebben op de tumorcellen en normaal weefsel. Fluoruridinetrifosfaat (FUTP) veroorzaakt veranderingen in de verwerking en functie van RNA. Fluordodeoxyuridinetrifosfaat (FdUTP) en fluordodeoxyuridinemonofosfaat (FdUMP) veroorzaken schade in het DNA. Beide processen resulteren in celdood.

DYPD-deficiëntie

Het grootste deel van de toegediende dosis 5-FU wordt binnen 24 uur terug gevonden in de urine als FBAL [4]. De meeste patiënten kunnen de behandeling met 5-FU redelijk goed verdragen. De patiënten met een mutatie in het DPD-gen (DPYD) blijken een verhoogd risico te lopen op ernstige toxiciteit zoals, diarree, mucositis en neurotoxiciteit. Soms zijn de gevolgen zo erg dat patiënten overlijden na een standaard dosis van 5-FU. Ongeveer 9% van alle Europese patiënten draagt een DPYD variant die de activiteit van het enzym DPD verlaagd [6]. DPD-deficiëntie is een zeldzame ziekte die op autosomaal recessieve wijze overgeërfd wordt. De symptomen kunnen variëren van geen tot ernstige neurologische symptomen met motorische en mentale ontwikkeling achterstand. Er zijn veel verschillende varianten van DPYD, de vier meest voorkomende zijn [6], [7]:

- DPYD*2A (c.1905 + 1G>A; IVS14 + 1G>A; rs3918290)
- DPYD*13 (c.1679T>G; rs55886062)
- c.2846A>T polymorphism (rs67376798)
- B3 haplotype (c.1236G>A; c.1129-5923C>G)

Advies EMA

Het screening van DPD-deficiëntie bij patiënt voorafgaand aan een geplande 5-FU chemotherapie was geen standaardbehandeling. Sinds 30 april 2020 is daar verandering in gekomen, het European Medicines Agency (EMA) raad aan dat patiënten getest moeten worden op DPD-deficiëntie voordat een behandeling met 5-FU, capecitabine, tegafur en flucytosine (fluorpyrimidines) gestart wordt [7], [8]. Terwijl heterozygote patiënten een lagere doses 5-FU moeten krijgen en dienen homozygote

patiënten een alternatieve chemotherapeutische behandeling te krijgen. Advies is om te testen op de vier meest voorkomende varianten, deze zijn bekend om het veroorzaken van (bijna) volledige afwezigheid van de activiteit van het enzym DPD [7].

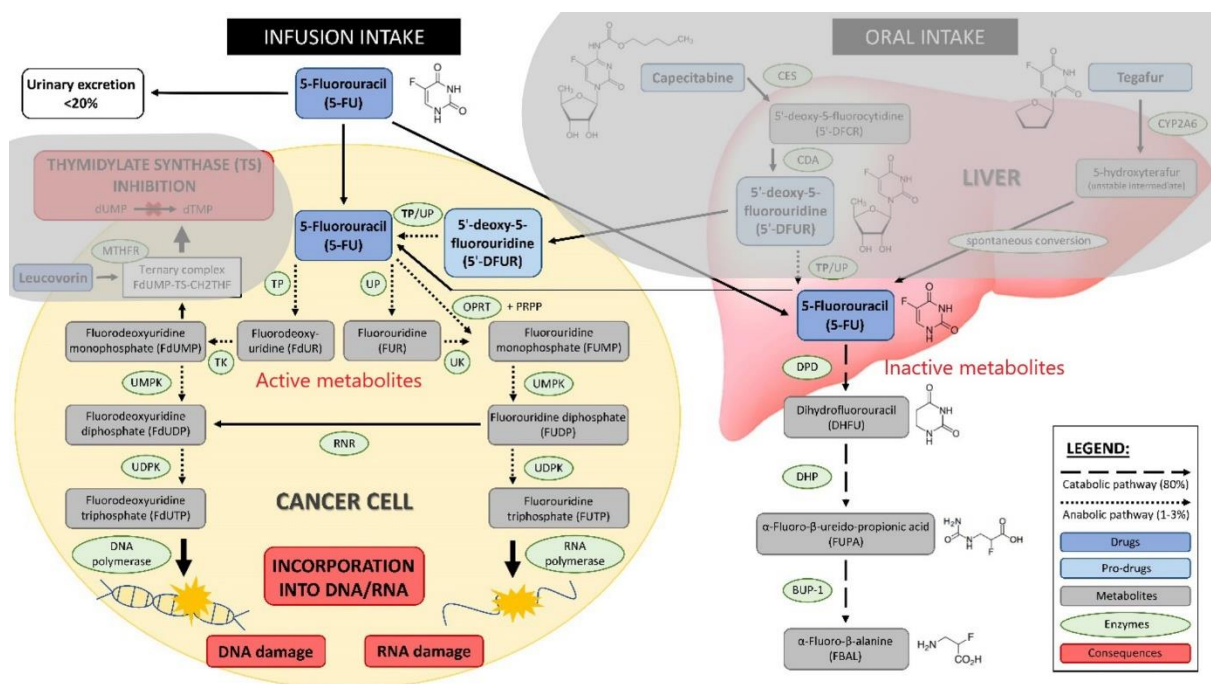
Detectie van de 4 varianten DYPD

Het detecteren van DPD-deficiëntie kan op veel verschillende manieren worden gedaan. Bij baby's met vroege neurologische symptomen zoals (epileptische) aanvallen en mensen waarbij verwacht wordt dat ze een DPYP-mutatie hebben, worden specifieke laboratoriumtesten gedaan waarbij gekeken wordt naar het niveau van uracil en/of thymine in plasma of urine [9]. Ook kunnen genetische testen gedaan worden om een mutatie in het DYPD gen te detecteren. Hierbij kunnen monster zoals, urine, plasma en bloed gebruikt worden.

PGX-5FU XL StripAssay

Een voorbeeld van een genetische test is de StripAssay van Viennalab, deze testen zijn gebaseerd op reverse hybridisatie techniek. De PGX-5FU XL StripAssay maakt gebruik van bloedmonsters waaruit het DNA geïsoleerd wordt. Vervolgens wordt er een PCR uitgevoerd zodat het DNA zich verveelvoudigt. De StripAssay bevat de mutant en wild type van alle vier de varianten van DPYP op één strip. De specifieke probes per bandje op de strip zorgen ervoor dat de vier varianten gedetecteerd kunnen worden.

Het EMA raadt aan om op voorhand van een 5-FU behandeling een screening te doen op DPD-deficiëntie bij de patiënten. Een verandering in het DPD-gen zorgt voor deze deficiëntie. Advies is om een screening te doen op de vier meest voorkomende varianten. Goffin Molecular Technologies biedt een StripAssay die het mogelijk maakt om in één test alle vier de varianten te kunnen testen.



Figuur 1: De metabolische pathway van 5-FU. In de kankercel is de anabole pathway te zien, de actieve metabolieten zorgen ervoor dat het DNA en RNA beschadigt worden. Aan de rechterkant is de katabole pathway te zien, dit is 80% van de afbraak van 5-FU. 5-FU wordt door het enzym DPD omgezet in inactieve metabolieten [10].

Alle auteurs hebben de laatste versie gecontroleerd en hebben toegestemd dat dit artikel op deze manier gepubliceerd wordt.

- [1] M. J. J. . Poos, A. . Gommer, and M. Rodriguez, “Kanker | Cijfers & Context | Sterfte en overleving | Volksgezondheidszorg.info,” 04-Sep-2020. [Online]. Available: <https://www.volksgezondheidszorg.info/onderwerp/kanker/cijfers-context/sterfte-en-overleving#!node-sterfte-aan-kanker>. [Accessed: 01-Mar-2021].
- [2] “Fluorouracil ,” 27-Dec-2019. [Online]. Available: <https://www.apotheek.nl/medicijnen/fluorouracil?product=5-fu>. [Accessed: 01-Mar-2021].
- [3] R. M. Wohlhueter, R. S. Mclvor, and P. G. W. Plagemann, “Facilitated transport of uracil and 5-fluorouracil, and permeation of orotic acid into cultured mammalian cells,” *J. Cell. Physiol.*, vol. 104, no. 3, pp. 309–319, 1980.
- [4] K. Miura *et al.*, “5-FU metabolism in cancer and orally-administrable 5-FU drugs,” Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), Sep. 2010.
- [5] F. A. Muhale, B. A. Wetmore, R. S. Thomas, and H. L. McLeod, “Systems pharmacology assessment of the 5-fluorouracil pathway,” *Pharmacogenomics*, vol. 12, no. 3, pp. 341–350, Mar. 2011.
- [6] B. Wörmann *et al.*, “Dihydropyrimidine Dehydrogenase Testing prior to Treatment with 5-Fluorouracil, Capecitabine, and Tegafur: A Consensus Paper,” *Oncol. Res. Treat.*, vol. 43, no. 11, pp. 628–636, Nov. 2020.
- [7] M. State, R. M. State, and T. Iii, “Annex III Amendments to relevant sections of the summary of product characteristics and package leaflets,” no. May, pp. 45–48, 2001.
- [8] Ema, “5FU A31_2020-04_public health communication_post EC decision.”
- [9] “Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency | Genetic and Rare Diseases Information Center (GARD) – an NCATS Program.” [Online]. Available: <https://rarediseases.info.nih.gov/diseases/19/dihydropyrimidine-dehydrogenase-deficiency>. [Accessed: 01-Mar-2021].
- [10] Vodenkova, Sona, Tomas Buchler, Klara Cervena, Veronika Veskrnova, Pavel Vodicka, and Veronika Vymetalkova. 2020. “5-Fluorouracil and Other Fluoropyrimidines in Colorectal Cancer: Past, Present and Future.” *Pharmacology and Therapeutics*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107447>.