

Detectie van vier varianten DPYD voor 5-FU behandeling

Iris van Dal¹, Noah van den Bemt¹, Max van Kraaij² en Eric van Vught²

¹Auteurs, "Goffin Molecular Technologies", Nederland

²Auteur/Controleur, "Goffin Molecular Technologies", Nederland

Gepubliceerd op: 02-03-2021 revisie op 13-12-2021

Inleiding

Voor het bestrijden van kanker wordt er vaak chemotherapie ingezet, hierbij wordt gebruik gemaakt van antimetaboliëten dat zorgt voor de remming van de celdeling. Eén belangrijke onderdeel bij de behandeling is 5-fluoruracil (5-FU) dat in combinatie met andere chemotherapeutische middelen wordt ingezet tegen verschillende soorten kanker. Bij voornamelijk darmkanker is de behandeling met 5-FU effectief [1]. Hierbij speelt het enzym dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) een belangrijke rol om de 5-FU af te breken. Echter door mutaties aan het gen dat codeert voor DPD, het DPYD gen, kan behandeling met 5-FU een verhoogd risico hebben op hevige bijwerkingen en die in sommige gevallen zelfs fataal kunnen aflopen. Vandaar dat testen op de meest voorkomende mutatievarianten van DPYD van cruciaal belang kan zijn voordat de behandeling 5-FU wordt gestart.

5-fluoruracil (5-FU) is chemisch verwant aan de nucleobase uracil en functioneert als een antimetaboliëet. Dit betekent dat het competitie aangaat met uracil en zo bepaalde pathways, waar uracil betrokken bij is, inhibeert. 5-FU komt de cel binnen via hetzelfde transportmechanisme als uracil waar het door een complex netwerk aan katabolische en anabolische enzymen gereguleerd wordt [2]. Het mechanisme van 5-FU berust op het remmen van de celdeling door onder andere het enzym *thymidylate synthase* (TH) te inhiberen, dat belangrijk is voor het synthetiseren van DNA en RNA. Daarnaast zijn de metabole producten van 5-FU in staat om in zowel het DNA als RNA ingebouwd te worden wat leidt tot cytotoxiciteit. 1 tot 3% van de originele 5-FU dosis wordt omgezet in actieve anabole metaboliëten die cytotoxische effecten hebben op de tumorcellen en normaal weefsel [5].

Uit onderzoek blijkt dat enzym dihydropyridine dehydrogenase (DPD) 80 tot 85% van 5-FU gekataboliseerd wordt naar de inactieve vorm [3][4]. 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). DHFU wordt na enkele enzymatische reacties omgezet in α -fluor- β -alanine (FBAL). Waarbij het grootste deel van de toegediende dosis 5-FU binnen 24 uur wordt teruggevonden in urine als FBAL [3]. Deze metabole pathway staat in figuur 1 weergegeven.

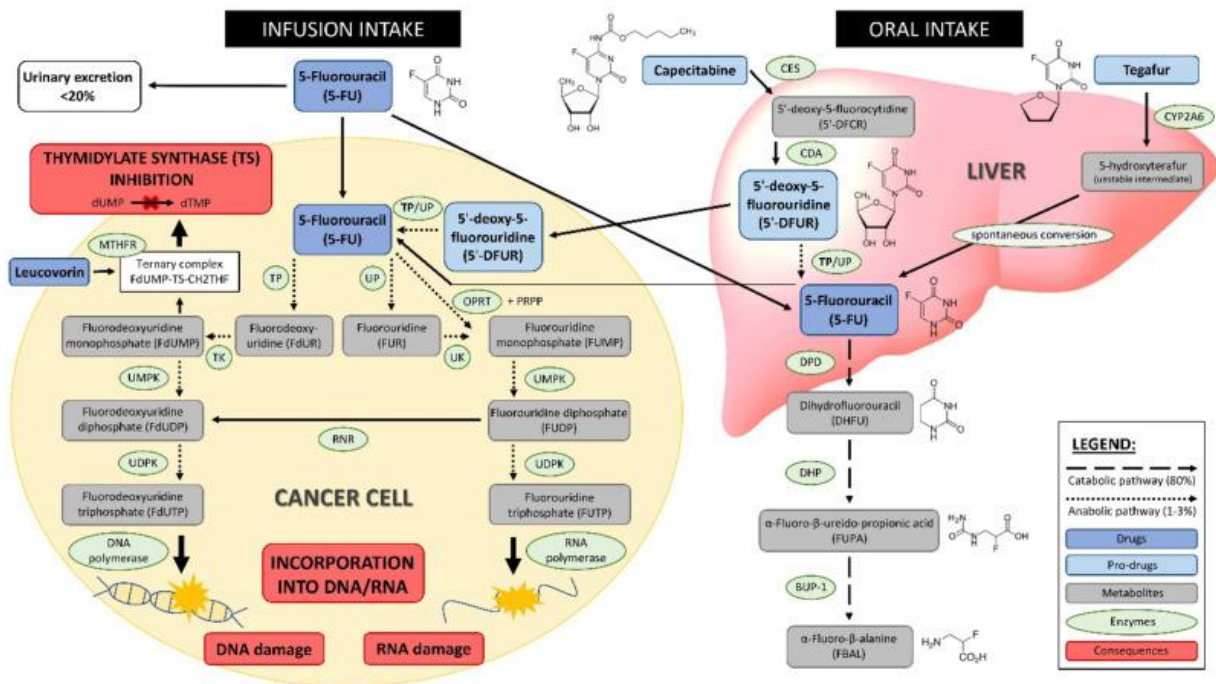
De meeste patiënten kunnen de behandeling met 5-FU redelijk goed verdragen. De patiënten met een mutatie in het DPD-gen (DPYD) blijken een verhoogd risico te lopen op ernstige toxiciteit zoals, diarree,

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 vier meest voorkomende varianten 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 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 of soortgelijke middelen zoals capecitabine, tegafur en flucytosine gestart wordt [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 (extreem) verlaagde activiteit van het enzym DPD.



Figuur 1 **metabole pathway van 5-FU**. In de kankercel is de anabole pathway te zien, de actieve metabolieten zorgen ervoor dat het DNA en RNA beschadigd worden. In de levercel 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. De belangrijkste metabolieten van 5-FU zijn de Fluoruridinetrifosfaat (FUTP) wat de verandering in de verwerking en functie van RNA veroorzaakt; Fluorodeoxyuridinetrifosfaat (FdUTP) dat zorgt voor de inhibitie van thymidylate synthase en fluorodeoxyuridinemonofosfaat (FdUMP) dat schade in het DNA veroorzaakt. Al deze mechanismen resulteren in celdood.

PGX-5FU XL StripAssay

De StripAssay van Viennalab biedt de mogelijkheid om te testen op de vier meest voorkomende varianten van DPD-Deficiënties. Deze testen zijn gebaseerd 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 het zowel de mutant als het wild type van alle vier de varianten van DPYP op één strip. Zo kan er niet alleen bepaald worden of een patiënt een mutatie bevat maar ook of er sprake is van een hetero- of homozygote DPYP-mutatie. De specifieke probes per bandje op de strip zorgen ervoor dat de vier varianten gedetecteerd kunnen worden. Deze probes bestaan uit single strands DNA wat complement is aan het gedenateerde PCR-product en zo een complex vormen waarmee er een gekleurde markering ontstaat.

De PGX-5FU XL StripAssay wordt nu aangeboden door Goffin Molecular Technologies.

Disclaimer.

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

Literatuurlijst.

[1] D. B. Longley, D. P. Harkin, and P. G. Johnston, "5-Fluorouracil: Mechanisms of action and clinical

- strategies," *Nature Reviews Cancer*, vol. 3, no. 5, pp. 330–338, 2003. doi: 10.1038/nrc1074.
- [2] R. M. Wohlhueter, R. S. McIvor, and P. G. W. Plagemann, "Facilitated transport of uracil and 5-fluorouracil, and permeation of orotic acid into cultured mammalian cells," *Journal of Cellular Physiology*, vol. 104, no. 3, pp. 309–319, 1980, doi: 10.1002/jcp.1041040305.
- [3] K. Miura *et al.*, "5-FU Metabolism in Cancer and Orally-Administrable 5-FU Drugs," *Cancers*, vol. 2, no. 3, p. 1717, 2010, doi: 10.3390/CANCERS2031717.
- [4] 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, p. 341, 2011, doi: 10.2217/PGS.10.188.
- [5] S. Vodenkova, T. Buchler, K. Cervena, V. Veskrnova, P. Vodicka, and V. Vymetalkova, "5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future," *Pharmacology and Therapeutics*, vol. 206, p. 107447, 2020, doi: 10.1016/j.pharmthera.2019.107447.
- [6] B. Wörmann *et al.*, "Dihydropyrimidine Dehydrogenase Testing prior to Treatment with 5-Fluorouracil, Capecitabine, and Tegafur: A Consensus Paper," *Oncology Research and Treatment*, vol. 43, no. 11, pp. 628–636, 2020, doi: 10.1159/000510258.
- [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 recommendations on DPD testing prior to treatment with fluorouracil, capecitabine, tegafur and flucytosine | European Medicines Agency.”

<https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-recommendations-dpd-testing-prior-treatment-fluorouracil-capecitabine-tegafur-flucytosine> (accessed Dec. 10, 2021).

- [9] B. Wörmann *et al.*, “Dihydropyrimidine Dehydrogenase Testing prior to Treatment with 5-Fluorouracil, Capecitabine, and Tegafur: A Consensus Paper,” *Oncology Research and Treatment*, vol. 43, no. 11, pp. 628–636, 2020, doi: 10.1159/000510258.