Test for aktivitet af dihydropyrimidine dehydrogenase forud for behandling med 5-fluorouracil- (i.v.), capecitabin- og tegafurholdige præparater

Version 1.0

GODKENDT
Faglig godkendelse
1. november 2024 (DCCG)
Administrativ godkendelse
12. november 2024 (Sekretariatet for Kliniske Retningslinjer på Kræftområdet)

REVISION
Planlagt: 1. november 2027

INDEKSERING
DCCG, dihydropyrimidine dehydrogenase, 5-fluoriracil, capecitabin- og tegafurholdig præparater

Indholdsfortegnelse

1. Anbefalinger (Quick guide) 1
2. Introduktion 3
3. Grundlag 1
Indledning 3
5-fluorouracil farmakokinetik 4
Dosering af 5-fluorouracil 4
DPD-aktivitet bestemmelse 5
4. Referencer 14
5. Metode 17
6. Monitorering 19
7. Bilag 20
Bestemmelse af fænotype 21
Bestemmelse af genotype: 22
8. Om denne kliniske retningslinje 24

1. Anbefalinger (Quick guide)

Det overordnede mål er at reducere risikoen for grad 3-5 bivirkninger inklusive indlæggelser (eller forlængelse heraf) og død relateret til behandling med 5-fluorouracil (5-FU) præparater.

1. **Patientens dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)-aktivitet bør vurderes før påbegyndelse af første behandling med 5-FU. Dette gælder såvel behandling med infusionsbaserede 5-FU-regimer samt perorale prodrugs til 5-FU (capecitabin eller tegafur) (B)**

2. **DPD-aktiviteten kan vurderes ved (B):**

    - **DPD-fænotype test ved analyse af P–Uracil**
    - **DPYD-genotype test, hvor som minimum de fire almindeligste genetiske varianter forbundet med nedsat DPD-aktivitet, bør indgå:**
    - **DPYD*13, DPYD*2A, D949V og HapB3 (se Tabel 2 for rs-nummer)**

3. **Det er udefra foreliggende evidens uklart, hvilken test-strategi som er bedst, men (B):**

    - **Svaret på mindst en af analyserne bør være tilgængeligt, før der kan ordineres 5-FU.**
    - **Tid til svar på analyserne bør ikke overstige tre arbejdsdage**

4. **Systemisk behandling med 5-FU er kontraindiceret hos patienter med meget lav eller ingen DPD-aktivitet, defineret ved (B):**

    - **P–Uracil ≥ 150 ng/ml**
    - **Homozygoti eller compound heterozygoti for >1 DPYD-variant forbundet med nedsat DPD-aktivitet**

5. **Systemisk behandling med 5-FU bør opstartes i 50% af normal startdosis hos patienter med nedsat DPD-aktivitet, defineret ved (B):**

    - **P–Uracil ≥ 16 og < 150 ng/ml**
    - **Heterozygoti for en af DYPD-varianterne forbundet med nedsat DPD-aktivitet**

6. **Dette under samtidig hensyntagen til andre kliniske faktorer med betydning for 5-FU-relateret toksicitet (B):**

    - **Gradvis dosisøgning anbefales i samråd med patienten ved fravær af 5-FU relaterede bivirkninger, inklusive vurdering af nadir hæmatologi efter den første dosisreducerede serie**

7. **Systemisk behandling med 5-FU opstartes i normal startdosis under vanlig hensyntagen til kliniske faktorer med betydning for 5-FU relateret toksicitet såfremt (B):**

    - **P–Uracil < 16 ng/ml**

      og / eller:

    - **Fravær af homozygoti og heterozygoti for DYPD-varianter forbundet med nedsat DPD-aktivitet, som anført i Tabel 1.**

Tabel 1: Oversigt over svar på test for DPD-aktivitet samt anbefalet dosis af 5-fluorouracil

Test:	Normal DPD-aktivitet:	Delvist nedsat DPD-aktivitet:	Manglende DPD-aktivitet:
Genotype test:	*DPYD*-varianter ikke påvist	Heterozygot for *DPYD**13/*DPYD**2A/D949V / HapB3	Homozygoti eller compound heterozygoti for >1 *DPYD* variant
Fænotype test, P−Uracil:	≤ 16 ng/ml	> 16 ng/ml og < 150 ng/ml	≥ 150 ng/ml
Anbefalet dosering 5-FU-præparater:	Vanlig dosering	Startdosering 50% dosis	Må ikke anvendes

#Se Tabel 2 for de relevante specifikke numre og ændrede nukleotider. Svarafgivelse bør indeholde information om DPD-aktiviteten samt umiddelbar beslutningsstøtte til klinikerne enten direkte i svaret eller som henvisning til internt dokument.

2. Introduktion

Formål

Lægemiddelstyrelsen udsendte d. 3. juni 2020 en meddelelse med titlen: "5-Fluorouracil- (i.v.), capecitabin- og tegafurholdige præparater: Undersøgelse for DPD-mangel før iværksættelse af behandling for at identificere patienter med øget risiko for alvorlig toksicitet" (1) til læger, der ordinerer kemoterapi. Heri anbefales det at bestemme aktiviteten af enzymet dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) forud for behandling med 5-fluorouracil (5-FU) og prodrugs hertil. Det anbefales også, at dosis justeres i forhold til aktiviteten således, at risikoen for svære 5-FU-relaterede bivirkninger og dødsfald reduceres. Anbefalingen fra Lægemiddelstyrelsen fulgte en anbefaling af d. 30. april 2020 fra det Europæiske Lægemiddelagentur, EMA (2). I de relevante lægemidlers produktresuméer medførte det blandt andet følgende tilføjelse i pkt. 4.4 "Særlige advarsler og forsigtighedsregler vedrørende brugen":

Fænotype- og/eller genotypetestning før initiering af behandling med "5-FU LÆGEMIDDEL X" anbefales trods usikkerheder vedrørende optimale testningsmetoder før behandling. Der skal tages hensyn til relevante kliniske retningslinjer.

Analyser til bestemmelse af DPD-aktiviteten var tilbage i 2020 ikke tilgængelige for klinisk brug i Danmark. Der eksisterer flere typer af test og analysemetoder, der er krav til svartid, og det drejer sig om et stort antal patienter per år. Derfor valgte Dansk Selskab for Klinisk Onkologi (DSKO) og Dansk Selskab for Klinisk Biokemi (DSKB) at nedsætte en arbejdsgruppe mhp. at skabe national konsensus i forhold til implementering af test for nedsat DPD-aktivitet. Til arbejdsgruppen er derudover tilknyttet to kliniske farmakologer. Denne retningslinje omhandler udelukkende forholdsregler før systemisk behandling med 5-FU præparater. Siden den første version af denne anbefaling blev udgivet i 2020, er testning af DPD-aktivitet blevet standard hos alle relevante kræftpatienter i Danmark. Der benyttes på nuværende tidspunkt både analyse af DPYD-genotype og DPD-fænotype til at vurdere DPD-aktiviteten. Der er siden implementeringen af disse tests udgivet kliniske studier, som også inkluderer danske kræftpatienter.

Formålet med dette dokument er at beskrive de kliniske og metodemæssige forhold samt anbefalinger vedrørende dosisjustering af 5-FU præparater ud fra DPD-aktivitet bestemmelse, i relation til den foreliggende evidens.

Patientgruppe

Alle patienter, der behandles med 5-Fluorouracil- (i.v.), capecitabin- og tegafurholdige præparater.

Målgruppe for brug af retningslinjen

Denne retningslinje skal primært understøtte det kliniske arbejde og udviklingen af den kliniske kvalitet, hvorfor den primære målgruppe er klinisk arbejdende sundhedsprofessionelle i det danske sundhedsvæsen.

3. Grundlag

Det overordnede mål er at reducere risikoen for grad 3-5 bivirkninger inklusive indlæggelser (eller forlængelse heraf) og død relateret til behandling med 5-fluorouracil (5-FU) præparater.

1. **Patientens dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)-aktivitet bør vurderes før påbegyndelse af første behandling med 5-FU. Dette gælder såvel behandling med infusionsbaserede 5-FU-regimer samt perorale prodrugs til 5-FU (capecitabin eller tegafur) (B)**

2. **DPD-aktiviteten kan vurderes ved (B):**

    - **DPD-fænotype test ved analyse af P–Uracil**
    - **DPYD-genotype test, hvor som minimum de fire almindeligste genetiske varianter forbundet med nedsat DPD-aktivitet, bør indgå:**
    - **DPYD*13, DPYD*2A, D949V og HapB3 (se Tabel 2 for rs-nummer)**

3. **Det er udefra foreliggende evidens uklart, hvilken test-strategi som er bedst, men (B):**

    - **Svaret på mindst en af analyserne bør være tilgængeligt, før der kan ordineres 5-FU.**
    - **Tid til svar på analyserne bør ikke overstige tre arbejdsdage**

4. **Systemisk behandling med 5-FU er kontraindiceret hos patienter med meget lav eller ingen DPD-aktivitet, defineret ved (B):**

    - **P–Uracil ≥ 150 ng/ml**
    - **Homozygoti eller compound heterozygoti for >1 DPYD-variant forbundet med nedsat DPD-aktivitet**

5. **Systemisk behandling med 5-FU bør opstartes i 50% af normal startdosis hos patienter med nedsat DPD-aktivitet, defineret ved (B):**

    - **P–Uracil ≥ 16 og < 150 ng/ml**
    - **Heterozygoti for en af DYPD-varianterne forbundet med nedsat DPD-aktivitet**

6. **Dette under samtidig hensyntagen til andre kliniske faktorer med betydning for 5-FU-relateret toksicitet (B):**

    - **Gradvis dosisøgning anbefales i samråd med patienten ved fravær af 5-FU relaterede bivirkninger, inklusive vurdering af nadir hæmatologi efter den første dosisreducerede serie**

7. **Systemisk behandling med 5-FU opstartes i normal startdosis under vanlig hensyntagen til kliniske faktorer med betydning for 5-FU relateret toksicitet såfremt (B):**

    - **P–Uracil < 16 ng/ml**

      og / eller:

    - **Fravær af homozygoti og heterozygoti for DYPD-varianter forbundet med nedsat DPD-aktivitet, som anført i Tabel 1.**

Tabel 1: Oversigt over svar på test for DPD-aktivitet samt anbefalet dosis af 5-fluorouracil

Test:	Normal DPD-aktivitet:	Delvist nedsat DPD-aktivitet:	Manglende DPD-aktivitet:
Genotype test:	*DPYD*-varianter ikke påvist	Heterozygot for *DPYD**13/*DPYD**2A/D949V / HapB3	Homozygoti eller compound heterozygoti for >1 *DPYD* variant
Fænotype test, P−Uracil:	≤ 16 ng/ml	> 16 ng/ml og < 150 ng/ml	≥ 150 ng/ml
Anbefalet dosering 5-FU-præparater:	Vanlig dosering	Startdosering 50% dosis	Må ikke anvendes

#Se Tabel 2 for de relevante specifikke numre og ændrede nukleotider. Svarafgivelse bør indeholde information om DPD-aktiviteten samt umiddelbar beslutningsstøtte til klinikerne enten direkte i svaret eller som henvisning til internt dokument.

Litteratur og evidensgennemgang

Det er meget vigtigt at understrege, at mange af de underliggende data og dermed anbefalinger, uanset om man bruger geno- eller fænotypebestemmelse, er baseret på heterogene studiepopulationer, og de er ofte ekstrapoleret ud fra observationelle, retrospektive data. Desuden er udfordringen at uanset valg af test vil den prædiktive værdi i forhold til alvorlige bivirkninger være suboptimal med en lav sensitivitet og lav positiv

prædiktiv værdi og alle patienter kan, uanset at DPD-aktiviteten er vurderet normal (såvel bestemt ved geno- eller fænotype), få alvorlige bivirkninger.

Patientværdier og – præferencer

Anbefalinger omhandler initiel dosis baseret på omsætning af lægemiddel, hvilket umiddelbart ikke involverer patient præference. En evt. dosisøgning – vil jf. anbefalinger foregå i samråd med patienten og baseret på bivirkningsprofil og præferencer.

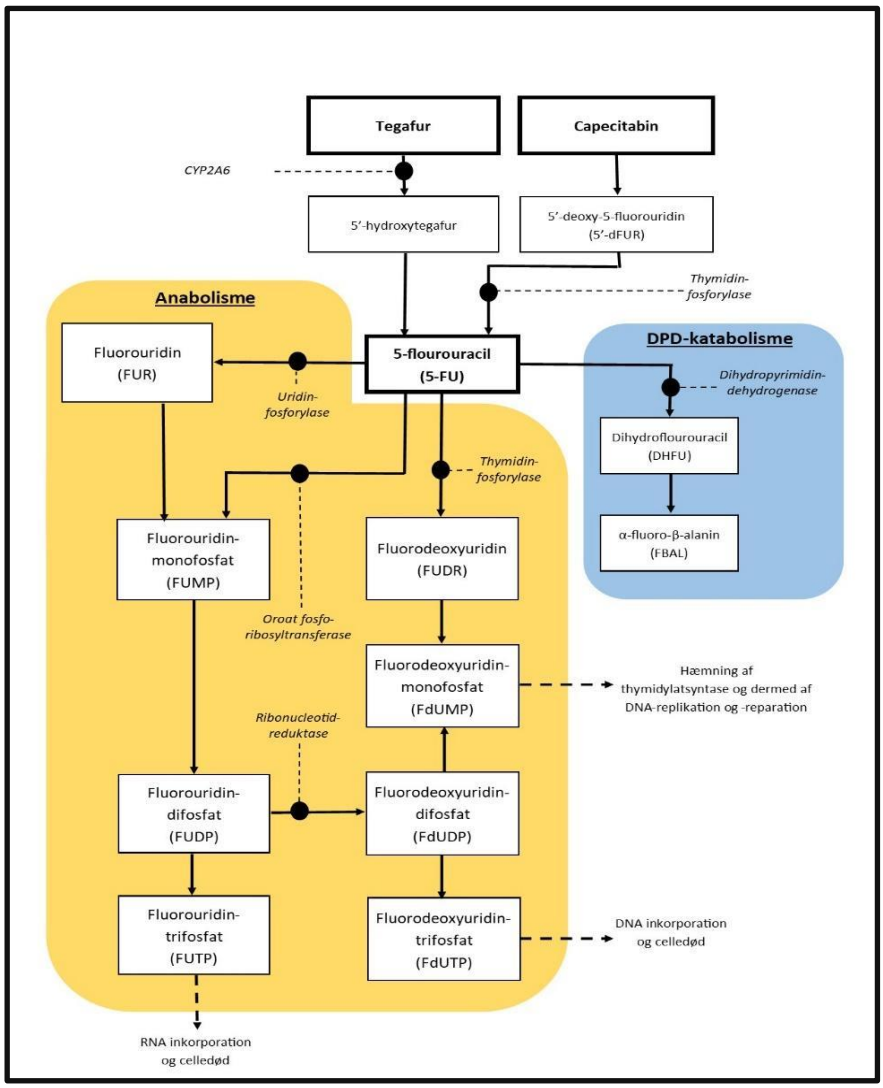
Indledning

Kemoterapi med 5-FU præparater har i mere end 50 år været anvendt til en lang række kræftsygdomme og indgår aktuelt i standardbehandlingen af mange typer af solide tumorer – primært kræft udgående fra mave-tarm regionen inklusive bugspytkirtel og galdeveje, men også brystkræft og kræft i hoved-hals regionen. 5-FU kan gives både som monoterapi og som en del af en kombinationsbehandling med andre cytostatika (f.eks. platiner og topoisomerasehæmmere) eller targeterede stoffer. Herudover gives 5-FU også sammen med strålebehandling. Der findes talrige 5-FU regimer (3). Disse inkluderer intravenøse regimer, hvor 5-FU gives enten som bolus og/eller som kontinuerlig infusion over dage eller uger med pumpe, samt perorale pro-drugs (f.eks. capecitabin og tegafur), der efter indgift omdannes til 5-FU. I det følgende menes alle 5-FU præparater, når der skrives 5-FU medmindre andet er nævnt.

I Danmark vil omkring 4.500 nye patienter per år blive systemisk behandlet med 5-FU (tal anslået efter henvendelse til DAHANCA, DECV, DPCG, DCCG, DBCG). Hos hovedparten af disse patienter indgår behandling med 5-FU i den initiale systemiske behandling, og derfor er det nødvendigt at tiden til opstart af behandling opfylder kravene iht. kræftpakkeforløbene, der er standardiserede beskrivelser af patienternes samlede forløb inkl. anbefalede forløbstider for udvalgte elementer i standardforløbet. Dette betyder, at behandling oftest skal starte indenfor 10-12 kalenderdage, og dette giver ekstra store udfordringer til svartid på de nødvendige analyser. I forbindelse med systemisk behandling med 5-FU-regimer vil 20-30% af patienterne udvikle svære 5-FU relaterede bivirkninger, primært i form af diarre (15% grad 3 eller 4), mucositis, neutropeni, febril neutropeni, thrombocytopeni, palmoplantart erytem (PPE) og kardielle symptomer. Hos 0,5-1% af patienterne vil bivirkningerne være dødelige (4). Den bedst kendte årsag til 5-FU-relateret toksicitet er manglende eller nedsat aktivitet af dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD). Hos personer med nedsat DPD-aktivitet vil der forekomme højere koncentrationer af de aktive metabolitter af 5-FU, hvilket medfører øget risiko for alvorlige bivirkninger. Hos disse personer er hyppigheden af alvorlige bivirkninger op til 70-80%. Derfor har det siden december 2018 været et krav at vurdere DPD-aktiviteten før første behandling med et 5-FU præparat i Frankrig, og 30. april 2020 blev det ligeledes anbefalet af EMA (2). Kliniske studier har vist, at patienter med nedsat DPD-aktivitet har øget risiko for grad 3-5 5-FU relateret toksicitet, indlæggelser og i sjældne tilfælde død, hvis de behandles med de generelt anbefalede doser 5-FU (5-9).

5-fluorouracil farmakokinetik

Metabolismen af 5-FU er kompliceret (Figur 1). Det er kun en beskeden del af 5-FU, der via anabole processer omsættes til de aktive metabolitter, som medierer den cytotoksiske effekt. DPD, kodet af genet DPYD, katalyserer omdannelsen af 5-FU til dihydrofluorouracil (DHFU), der efterfølgende omdannes til fluoro-beta-ureidopropionat (FUPA) og endeligt fluoro-beta-alanin (FBAL). DPD er således det centrale og hastighedsbegrænsende enzym i omsætningen af 5-FU til inaktive metabolitter (4, 10, 11). Leveren er det primære sted for katabolismen af 5-FU, men DPD findes i mange celler/væv.



Figur 1. Skitse af 5-flourouracils, tegafurs og capecitabins metabolisme og virkningsmekanisme. Centrale enzymer er anført med kursiveret skrift. Udarbejdet med inspiration fra Miura et al. og Meulendijks et al. (4, 10).

Dosering af 5-fluorouracil

5-FU har et snævert terapeutisk vindue og udviser non-lineær kinetik (12). Ved standarddosering baseret på overfladeareal (BSA) fås en betydelig inter-individuel variation i plasmakoncentrationen (13), hvilket primært

afspejler forskelle i omsætningshastigheden (14). Ud over genetiske polymorfier i gener, der koder for nøgleenzymer i omsætningen af 5-FU, bidrager faktorer som alder, køn, sygdomsstadie, 5-FU regime, lægemiddelinteraktioner og komorbiditet til denne variation (4). Der er gjort flere forsøg på dosisjustering af 5-FU ud fra koncentrationsmålinger (15). Sammenlignet med fast dosering efter BSA, viste en metaanalyse, at individualiseret dosering fordobler responsraten på 5-FU uden at risikoen for bivirkninger ændres væsentligt (15). Effekten på overlevelse er mere usikker (12). Der er publiceret algoritmer for dosistilpasning og studier, som foreslår, hvordan plasmakoncentrationen kan styres ind i et fastlagt interval på anbefalet AUC 20–24 mg*h/l (16, 17). Studier viser, at med fast dosering efter BSA, er det kun 20-30% af patienterne, som opnår den ønskede AUC, mens omkring halvdelen af patienterne opnår en AUC under den anbefalede værdi (12, 18). Mange praktiske forhold komplicerer denne tilgang til individualiseret dosering af 5-FU. Der skal f.eks. tages en eller flere prøver ved hver behandling til en valid bestemmelse af AUC. Principielt forebygger metoden heller ikke toksicitet i første behandlingsserie, hvor der gives standarddosis, og dosisjustering ud fra bestemmelse af plasmakoncentrationer må aktuelt anses for utilstrækkeligt underbygget til at kunne implementeres i den kliniske rutine.

DPD-aktivitet bestemmelse

To overordnede principper anvendes globalt til bestemmelse af DPD-aktiviteten (19). Det ene er en genotypetest som på nuværende tidspunkt undersøger de 4 klinisk vigtigste genetiske varianter / enkelt-nukleotid-polymorfier (SNPs) i DPYD-genet, jf. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines (20). Den anden er en fænotypetest (19), hvor plasmakoncentrationen af uracil (P−Uracil) (og i visse algoritmer også metabolitter af uracil) bestemmes vha. væskekromatografi-massespektrometri (LC-MS). Metoderne er beskrevet mere udførligt i Appendix A.

Sammenhængen mellem eliminationshastigheden (clearance) af 5-FU og DPYD-genotype eller DPD-fænotype ved måling af P−Uracil er dog ikke overbevisende. I et studie fik 169 patienter målt 5-FU-clearance og bestemt DPYD-genotype og P−Uracil. I særlig grad var der stor variation i 5-FU-clearance blandt patienter med ”normal” genotype (ikke-bærere) og blandt patienter med ”normal” P−Uracil (<16 ng/ml) (21).

Som alternativ til en solitær måling af P−Uracil, kan ratioen mellem dihydrouracil og uracil ([UH2]/[U]) anvendes. I forhold til adskillelse mellem normal DPD-aktivitet og delvis DPD-mangel, eksisterer der grænser for [UH2]/[U], men disse er varierende fra studie til studie. Derudover er der de senere år tilkommet flere fænotypiske test til screening for DPD-mangel, bl.a. direkte måling af DPD-aktivitet i mononukleære celler i perifert blod (PMCBs; peripheral blood mononuclear cells) og uracil breath test (14), men der er endnu ingen konsensus eller evidens for, hvordan fænotypisk DPD-mangel defineres ved disse tests (4). Desuden står krav til laboratorieudstyr, svartider og utilstrækkelig diagnostisk præcision i vejen for en klinisk implementering.

Genotype-test (DPYD-genotype)

Den hyppigste kendte årsag til nedsat DPD-aktivitet er genetisk variation i DPYD, der koder for DPD enzymet. Hetero- eller homozygoti for specifikke varianter i DPYD kan påvises vha. forskellige DNA-baserede metoder, som beskrevet i Appendix A. Mere end 120 varianter i DPYD er beskrevet; mange af disse er uden funktionel

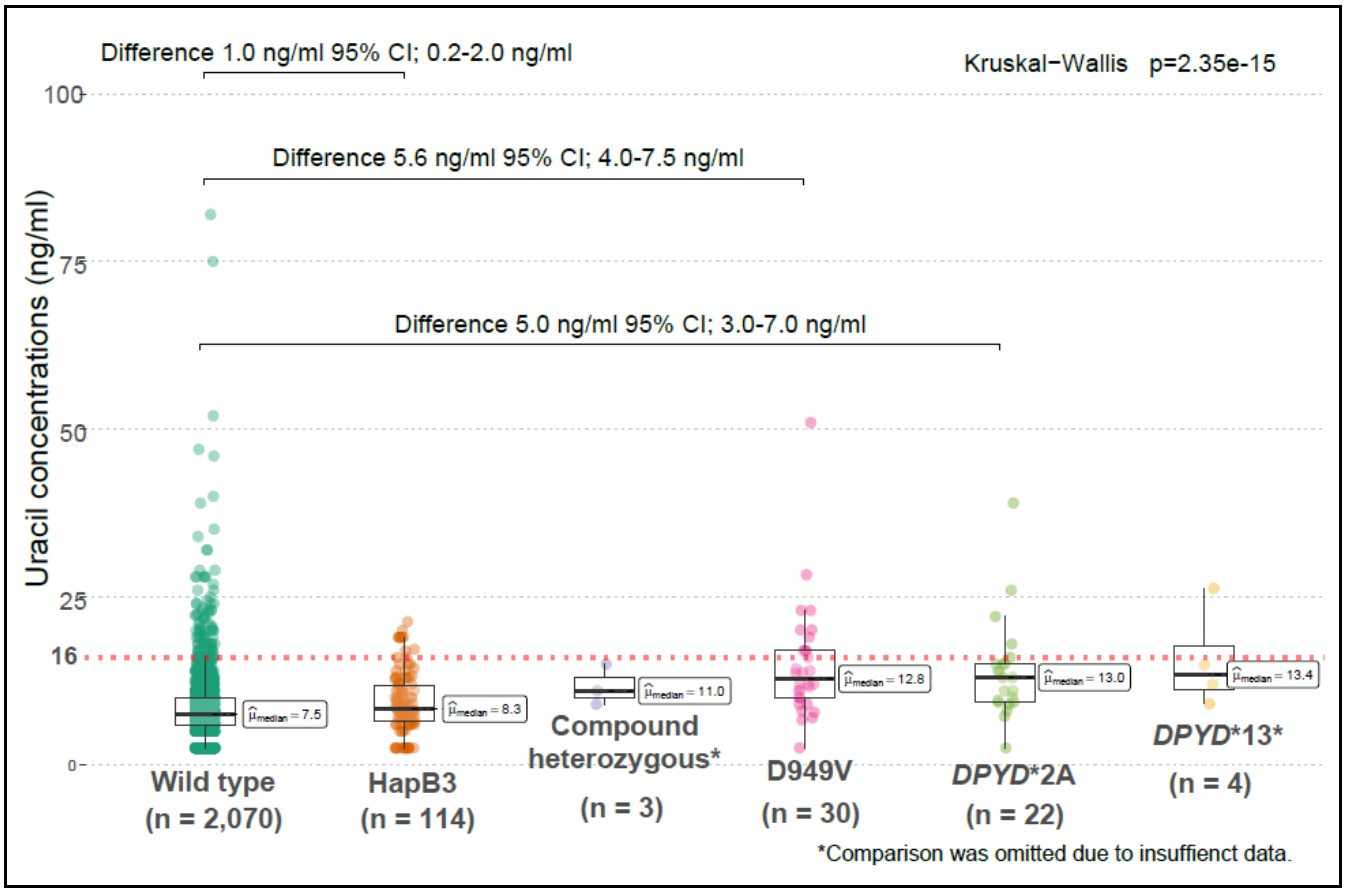
betydning, men nye potentielt klinisk relevante kommer stadig til (19). De fleste funktionelt betydende DPYD-varianter medfører nedsat DPD-aktivitet, men enkelte øger DPD-aktiviteten (7, 20, 22).

Generelt udgør fire enkelt nukleotid polymorfier (SNPs) i DPYD - rs56038477 / rs75017182 (HapB3), rs67376798, rs3918290 (DPYD*2A) og rs55886062 (DPYD*13) størstedelen af de funktionelle varianter med klinisk betydning hos personer med kaukasisk afstamning (Tabel 2) (19). Hetero- eller homozygote bærere af disse varianter har nedsat DPD-aktivitet sammenlignet med ikke-bærere (7). Der er beskeden viden om varianterne i andre populationer. Ovennævnte nomenklatur er i henhold til CPIC (22).

Tabel 2. De 4 hyppigste klinisk betydende enkelt nukleotid polymorfier i *DYPD* samt forekomst hos 4.215 danske kræftpatienter (23).

***DPYD*-variant**	**SNP (rs-nummer)**	**Enkelt nukleotidændring**	**Forekomst hos 4.215 danske kræftpatienter**
Ikke-bærere (wild-type)			92,4% (n=3.895)
*DPYD*13	rs55886062	c.1679T>G	0,2% (n=8)
*DPYD*2A	rs3918290	c.1905+1G>A	1,0% (n=43)
"D949V"	rs67376798	c.2846A>T	1,4% (n=57)
HapB3	rs56038477 rs75017182	c.1129-5923C>G	4,9% (n=208)
Compound heterozygot			<0,1% (n=4)
Homozygot			<0,01% (n=0)
Total med *DPYD*-varianter			7,6% (n=420)

Figur 2: Fordeling af P−Uracil koncentration på tværs af DPYD-varianter hos 2.243 danske kræftpatienter. Den røde stiplede linje repræsenterer cut-off værdien på 16 ng/ml (23).



Den gennemsnitlige DPD-aktivitet varierer imellem bærere af de respektive DPYD-varianter, men der ses også en meget stor variation indenfor de enkelte genotyper og også et betydeligt overlap mellem grupperne (24). Samtidigt kan der fortsat forekomme svær 5-FU relateret toksicitet hos patienter der ikke er bærer af en af de nævnte DPYD-varianter (7). Udover genetisk variation i DYPD er andre faktorer så som nyrefunktion, leverfunktion, alder, og performance status vist at være forbundet med nedsat 5-FU-clearance (25).

Dosering af 5-FU baseret på bestemmelse af DPYD-genotype

I et prospektivt studie blev 2.039 patienter undersøgt for varianten DPYD*2A (26). 18 patienter (1%) var heterozygote for DPYD*2A varianten og fik behandling med 50% af standard 5-FU dosis. Af disse fik 28% (5/18) svære bivirkninger. Dette er i modsætning til en historisk kontrolgruppe med patienter, der ligeledes havde DPYD*2A heterozygot genotype, og som blev behandlet med 100% standard dosering. Her udviklede 73% (35/48) af patienterne svære bivirkninger. Koncentrationsmålinger viste at 5-FU koncentrationerne var sammenlignelige i de to grupper når der blev givet 50% dosis til patienter med DPYD*2A genotype og 100% dosis til patienter uden påvist DPYD-variant. I gruppen uden påvist DPYD-variant fik 23% (373/1613) svære bivirkninger. Ingen af de 18 patienter, der blev behandlet med dosis tilpasset efter genotype døde, hvorimod 10% (5 af 48) i den historiske kontrolgruppe døde.

I et prospektivt studie fra 2018 af 1.103 patienter behandlet med forskellige 5-FU-præparater, havde 8% (85 patienter) nedsat DPD-aktivitet, defineret som heterozygoti for én af de fire hyppigste klinisk betydende varianter (27). Heterozygote patienter blev dosisreduceret på baggrund af fund af en af disse varianter. Patienter, der var homozygote eller compound heterozygote, modtog ikke behandling med 5-FU. På trods af

dosisreducering var forekomsten af svær 5-FU-relateret toksicitet højere hos DPYD-variant-bærere (39%) end hos patienter uden DPYD-variant (23%). Ved sammenligning med en historisk kohorte, der ikke blev dosisreduceret, var risikoen for 5-FU-relateret toksicitet dog generelt lavere med den genotype-baserede dosering.

Et retrospektivt canadisk studie fra 2021 undersøgte forekomsten af bivirkninger hos patienter som fik nedsat dosering af 5-FU efter implementeringen af DPYD-genotypering (9). Genotypering af varianten HapB3 blev implementeret i klinisk praksis efter studiets igangsættelse, og den anbefalede dosisreduktion for patienter, der bar denne specifikke variant, var 25-50%. For varianterne DPYD2A, D949V og DPYD13 var dosisreduktionen 50%. Bivirkningsdata for 1.435 genotyperede patienter viste, at forekomsten af grad ≥3 5-FU-relaterede bivirkninger var 31% hos patienter som var ikke-bærere af en DPYD-variant (418/1347) sammenlignet med 23% (11/47) hos bærere af DPYD-varianter, der blev behandlet med reducerede doser af 5-FU.

I et retrospektivt studie, med patienter som blev behandlet med 5-FU og stråleterapi, blev graden af svær toksicitet vurderet hos to grupper af patienter med DPYD-varianter. Den ene gruppe blev behandlet med 5-FU i 100% standarddosis, mens den anden gruppe fik reduceret dosis 5-FU sammenlignet med ikke-bærere. Risikoen for svære gastrointestinale og hæmatologiske bivirkninger var højere hos de 34 heterozygote bærere af en DPYD-variant som fik 5-FU i standard dosis, sammenlignet med ikke-bærere (odds ratio henholdsvis 2,58 [CI:1.02-6.53] og 4,19 [CI: 1.3-13.3]). Blandt de 22 heterozygote bærere, der fik 5-FU i reduceret dosis, var der ikke højere risiko for svære gastrointestinale eller hæmatologiske bivirkninger sammenlignet med ikke-bærere (28).

Der findes kun ganske få studier som beskriver overlevelsen hos patienter, der fik reduceret dosis 5-FU på baggrund af nedsat DPD-aktivitet. Et studie fra 2023 matchede 93 patienter som havde fået nedsat dosis af 5-FU på baggrund af DPYD-genotype med 279 ikke-bærere. I denne retrospektive eksplorative analyse fandt forfatterne ingen negativ påvirkning af progressionsfri overlevelse eller overlevelse hos patienterne som havde fået dosisjusteret 5-FU. Det er dog uklart, om studiet havde tilstrækkelig statistisk power for at undersøge overlevelse og der mangler større og prospektive studier, før man kan fastslå om resultaterne er pålidelige (29).

Danske data

I et dansk studie publiceret i 2023 blev forekomsten af grad ≥3 toksicitet og indlæggelser relateret til 5-FU efter klinisk implementering af DPYD-genotyping undersøgt (8). Patienterne i interventionsgruppen blev undersøgt for de fire DPYD-varianter beskrevet i Tabel 2 og blev behandlet efter den nuværende behandlingsalgoritme (som vist i Tabel 1). Patienterne fik taget blodprøver til senere bestemmelse af P−Uracil. Forekomsten af bivirkninger blev sammenlignet med bivirkninger hos en gruppe patienter, som blev behandlet før implementeringen af DPYD-genotypetesten i 2020, med normal dosering af 5-FU. Patienternes DPYD-genotype i kontrolgruppen blev analyseret retrospektivt ud fra tidligere indsamlet biobankmateriale. Patienternes forekomst af bivirkninger, indlæggelser og dosisjusteringer blev indsamlet via journaloplysninger, sundhedsregistre og apoteksoplysninger. Der blev inkluderet 230 patienter i den gruppe som fik dosisjusteret 5-FU på baggrund af DPYD-genotype. I kontrolgruppen blev der opsamlet data fra 492 patienter, som alle

havde biobankmateriale tilgængeligt. Studiet kunne ikke vise nogen signifikant forskel i forekomsten af grad ≥3 toksicitet imellem de 2 grupper (kontrolgruppen = 27% vs. interventionsgruppen 23%). Sammenlignede man kun forekomsten af bivirkninger hos patienter som var bærere af DPYD-varianter reducerede interventionen hyppigheden af 5-FU relaterede hospitalsindlæggelser (19% vs. 0%) og død (4,8% vs. 0%). Den relative risiko for grad ≥3 5-FU-relateret toksicitet for DPYD*2A-bærere i kontrolgruppen behandlet med standard doser 5-FU var signifikant øget sammenlignet med ikke-bærere (relativ risiko 3,42, 95% CI: 2,2-5,29). Der blev ikke observeret nogen signifikant ændring i relativ risiko for de resterende tre varianter (DPYD*13, D949V, HapB3). Uracil-målinger i interventionsgruppen viste at ikke-bærere af en DPYD-variant men med P−Uracil ≥ 16 ng/ml havde en højere frekvens af grad ≥3 5-FU-relateret toksicitet sammenlignet med ikke-bærere af en DPYD-variant med P−Uracil < 16 ng/ml (55% vs. 28%).

Sammenfattende kunne studiet kunne ikke demonstrere en generel fordel ved DPYD-genotypning i den samlede population. Ser man alene på DPYD-variant-bærere, viste studiet at implementeringen af DPYD-genotyping potentielt kan reducere forekomsten af 5-FU relaterede hospitalsindlæggelser og død. Måling af P−Uracil kan muligt tilføje værdifuld klinisk information hos DPYD ikke-bærere.

HapB3

Af de fire DPYD-varianter, som EMA anbefaler undersøgelse for (Tabel 2), er HapB3 den hyppigste i en europæisk befolkning (9, 27, 30). HapB3-varianten var også den hyppigste i en større population af danske kræftpatienter, med en prævalens på 4,9% (212/4215) (23).

Efter publiceringen i 2018 af et Hollandsk studie (27) blev den anbefalede dosisreduktion hos bærere af HapB3, ændret fra 25% til 50%. Dette studie viste, at en 25% dosisreduktion var utilstrækkelig til at sænke risikoen for 5-FU-relateret toksicitet til et niveau, der blev set hos ikke-bærere (grad ≥ 3 toksicitet: HapB3-bærere: 39%, ikke-bærere: 23%).

Disse data er dog ikke i tråd med nyere studier. I en retrospektiv undersøgelse fra 2021 blev det rapporteret at 41 HapB3-bærere, der blev behandlet uden dosisreduktion, havde lignende forekomst af 5-FU-relateret toksicitet sammenlignet med ikke-bærere (grad ≥3 toksicitet: HapB3-bærere: 34%, ikke-bærere: 31%) (9). Et studie af Boige et al. fandt det samme og rapporterede en odds ratio på 1.0 [CI: 0.55–1.81] for 5-FU relateret toksicitet for HapB3-bærere sammenlignet med ikke-bærere (31).

I det nævnte danske studie var hyppigheden af grad ≥3 5-FU-relateret toksicitet hos 27 HapB3-bærere (heterozygote) i kontrolgruppen den samme som hos ikke-bærere, når de blev behandlet med standard doser af 5-FU (22% vs. 22%). To patienter i kontrolgruppen var homozygote for HapB3-varianten og fik ikke grad ≥3 5-FU-relateret toksicitet, selvom de blev behandlet med standard doser 5-FU. Kun 2/12 (17%) af HapB3-bærerne (heterozygote) i interventionsgruppen, der modtog reducerede doser af 5-FU, oplevede grad ≥3 5-FU-relateret toksicitet.

Disse data tyder på, at HapB3-varianten ikke påvirker DPD-enzymaktiviteten nok til at forårsage en klinisk relevant stigning i 5-FU-koncentationen. Denne antagelse styrkes, når man ser på uracil koncentrationen hos patienter der bærer HapB3-varianten. I et dansk studie uden data om bivirkninger havde HapB3-bærere

(n=114) ikke højere P−Uracil sammenlignet med ikke-bærere (n=2070) (median P−Uracil hos HapB3-bærere: 8,3 ng/ml vs. ikke-bærere: 7,5 ng/ml (se Figur 2 for detaljer) (23).

Medianen i P−Uracil hos HapB3-bærere var også lavere sammenlignet med de andre testede DPYD-varianter (D949V: 12,8 ng/ml, DPYD*2A: 13 ng/ml, DPYD*13: 13,4 ng/ml). Lignende resultater er fundet i en undersøgelse af With et al. (24) og Pallet et al. (30). Resultaterne er yderligere underbygget af et studie som målte DPD-enzymaktivitet i mononukleære celler i perifert blod (PMCBs; peripheral blood mononuclear cells) som vurderes at være guldstandarden. Data fra 138 patienter viste, at den gennemsnitlige DPD-enzymaktivitet var højere hos HapB3-bærere end hos bærere af de andre tre DPYD-varianter (11).
På nuværende tidspunkt er vores anbefaling fortsat, at patienter som er bærere af DPYD HapB3, skal opstartes i 50% dosering af 5-FU. Det skal dog understreges, at vi især hos disse patienter anbefaler tæt monitorering, så dosis kan øges gradvist, hvis patienten ikke oplever bivirkninger.

Fænotype-test (P−Uracil)

DPD katalyserer omdannelsen af uracil til dihydrouracil (UH2), hvorfor en nedsat DPD-aktivitet medfører en høj P−Uracil koncentration, og dermed kan P−Uracil anvendes som endogen markør for DPD-aktivitet. Det er vist at høj P−Uracil associerer med lav clearance af 5-FU (32) og med lav DPD-aktivitet målt i mononukleære celler i perifert blod (PBMCs) (33). Et andet studie har dog ikke fundet nogen association mellem P−Uracil og DPD-aktivitet i mononukleære celler (24).

P−Uracil kan måles ved High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) kombineret med enten detektion med ultraviolet lys (UV) eller massespektrometer (MS). Der findes aktuelt ikke kommercielt tilgængelige CE-mærkede assays til måling af P−Uracil, dog forventes i løbet af 2025 at komme assays på markedet. Der udbydes et program for ekstern kvalitetskontrol for P−Uracil fra et fransk firma (Asqualab). Laboratorier der udbyder analysen P−Uracil bør deltage i et eksternt kvalitetskontrolprogram. Analysen er en batch analyse (et hold prøver samles sammen til analyse), hvor prøverne forberedes i løbet af dagen og analyses natten over med svar den efterfølgende dag, hvilket giver en analysetid på 1 – 2 dage uden at indregne eventuel prøveforsendelse. For uddybende detaljer, se Appendix A. Af anbefalingen fra lægemiddelstyrelsen (1) fremgår det, at P−Uracil mellem 16 ng/ml og 150 ng/ml er forenelig med delvist nedsat DPD-aktivitet og at P−Uracil > 150 ng/ml er foreneligt med fuldstændig mangel på DPD-aktivitet. Der foreligger ingen randomiserede kliniske studier eller metaanalyser af kohortestudier som har undersøgt sammenhængen mellem P−Uracil og risiko for alvorlig 5-FU relateret toksicitet. Grænsen på 16 ng/ml er baseret på relativt få kliniske kohortestudier med toxicitetsgrad 3 - 5 som primære outcome, hvor P−Uracil over 16 ng/ml er associeret med højere risiko for 5-FU relateret toksicitet (evidensgrad 2b) (6, 32, 33). Grænsen på 150 ng/ml er baseret på en ekspertrekommandation fra den Franske sundhedsstyrelse (34), hvor der er indsamlet data fra 38.862 patienter på tværs af Frankrig. I onkologiske patientkohorter forekommer P−Uracil mellem 16 ng/ml og 150 ng/ml hos 3 - 9% af patienterne, og P−Uracil over 150 ng/ml hos 0 - 0,05% (6, 23, 30, 32, 33).

I et Hollandsk studie (33) som var en del af et prospektivt studie med evaluering af genotypisk bestemmelse af DPD-aktivitet (se afsnit om genotype), fik 550 patienter målt P−Uracil og [UH2]/[U]. Forhøjet P−Uracil var associeret med en højere risiko for svære bivirkninger generelt, med en odds ratio (OR) på 2,75 (95% konfidensinterval: 1,39-5,44 per 10 ng/mL stigning i P−Uracil. Tilsvarende var risikoen højere for svære

gastrointestinale bivirkninger (odds ratio: 5,58 [2,08-14,9]), for bivirkningsrelateret indlæggelse (2,53 [1,23-5,19]) og død (5,11 [1,56-16,7]), men ikke for hæmatologisk toksicitet (1,53 [0,59-3,96]) per 10 ng/mL stigning i P−Uracil. Patienter med P−Uracil over 16 ng/mL (n=17) havde en højere risiko for svære bivirkninger generelt (OR 5,3; 1,53-18,7), svære gastrointestinale bivirkninger (OR 33,7; 6,4-176), indlæggelser (OR 16,9; 4,4-64,7) og død (OR 44,8; 4,55-441) sammenlignet med patienter med P−Uracil under 13 ng/mL.

I et dansk kohortestudie med uracilmålinger på i alt 200 cancerpatienter (8), havde 13 patienter P−Uracil over 16 ng/mL. Disse patienter havde en højere risiko for svære bivirkninger generelt sammenlignet med patienter med P−Uracil under 16 ng/mL (risk ratio: 1,96; 1,09-3,54). I samme studie fandt man, at patienter med P−Uracil over 16 ng/mL havde en højere risiko for svære bivirkninger (risk ratio: 2,0; 1,1-3,5) selvom de ikke var bærere af nogle af de fire klinisk betydende DPYD-varianter.

I et fransk kohortestudie med uracilmålinger på 203 cancerpatienter, hvor 18 patienter havde P−Uracil over 16 ng/mL, fandt men ikke nogen øget risiko for grad 3-4 bivirkninger (risk ratio 1,47; 0,48-4,45) men til gengæld en kraftigt øget risiko for grad 4 bivirkninger (risk ratio: 20,56; 1,96-215,8).

I endnu et Fransk studie (30) blev 4 metoder sammenlignet (DPYD, P−Uracil, [UH2]/[U] ratio og multi-parameter test) for at kunne forudsige livstruende bivirkninger (grad 4 og 5). Studiet har dog den svaghed, at det er baseret på data fra 452 patienter (41 patienter døde) - indsamlet over næsten 20 år - som fik foretaget analyse af DPD-aktivitet fordi de havde udviklet svære bivirkninger efter behandling med standard-dosis 5-FU. Der var stærk korrelation mellem P−Uracil og grad 4-5 bivirkninger. Af 280 patienter med normal P−Uracil døde 8 (3%), af 178 patienter med nedsat DPD-aktivitet (P−Uracil 16 - 150 ng/ml) døde 21 (12%) og af 14 patienter med manglende DPD-aktivitet (P−Uracil >150 ng/ml) døde 12 (86%). Til sammenligning fandtes med genotype-baserede test, at blandt ikke-bærere af DPYD-varianter døde 21 patienter svarende til 51,2% af de samlede 41 dødsfald.

Dosering af 5-FU baseret på bestemmelse af DPD-fæotype (P−Uracil)

Som anført er graden af 5-FU relateret toksicitet og dødsfald associeret til P−Uracil i observationelle studier, men der er mangel på prospektive studier, der undersøger dosisjusteret 5-FU på baggrund af fænotypisk bestemmelse af DPD-aktivitetet. Det må rimeligvis forventes, at en halvering af 5-FU dosis, på samme måde som til patienter med nedsat DPD-aktivitet vurderet ud fra genotype, vil reducere, men ikke eliminere risiko for svære 5-FU relaterede bivirkninger. Hos patienter med nedsat DPD-aktivitet (P−Uracil 16-150 ng/ml) tilrådes en halvering af standard startdosis af 5-FU. Flere forskergrupper (primært franske) angiver, at kombineret geno- og fænotype bestemmelse kan forbedre den prædiktive værdi. En fransk gruppe har patenteret en algoritme (som ikke er publiceret) baseret på geno- og fænotype bestemmelse samt individuelle karakteristika (30). Evidensen må dog fortsat betragtes som utilstrækkelig til at kunne anbefale denne algoritme som standard.

Koncentrationen af uracil i plasma påvirkes af flere faktorer, herunder nyrefunktion. Patienter med svært nedsat nyrefunktion har højere forekomst af forhøjet uracil (uracil ≥ 16 ng/ml) (35). Lægemiddelstyrelsen udsendte d. 24. oktober 2024 en meddelelse (DHPC) til alle danske onkologer, som beskrev denne problemstilling (36).

Der blev i meddelelse ikke angivet nogen kvantitative mål for, hvilken grad af nyrefunktionsnedsættelse der er tale om. Der foreligger ikke nogen klare retningslinjer for, hvilken grad af nedsat nyrefunktion der umuliggør tolkning af uracil koncentrationen. Det bemærkes i øvrigt at der naturligvis som vanligt skal tages højde for nyrefunktionen ved ordination 5-FU præparater.

Afrunding vedrørende dosisanbefalinger

Samlet vurderes det klart, at patienter hvor aktiviteten af DPD er nedsat – bestemt ved enten genotype eller fænotype - har en øget risiko for alvorlig toksicitet, indlæggelse og død under behandling med 5-FU. Det er derfor relevant at få foretaget fænotype- og/eller genotypetestning inden opstart af behandling med 5-FU, og at reducere startdosis hos patienter med nedsat DPD-aktivitet. Hvis der ikke ses bivirkninger i de første serier, kan der i samråd med patienten foretages gradvis dosisøgning. Ved total mangel på DPD-aktivitet er behandling med 5-FU kontraindiceret. Det er naturligvis fortsat vigtigt at have andre kliniske parametre med i overvejelserne omkring dosis.

Det er meget vigtigt at understrege, at mange af de underliggende data og dermed anbefalinger, uanset om man bruger geno- eller fænotypebestemmelse, er baseret på heterogene studiepopulationer, og de er ofte ekstrapoleret ud fra observationelle, retrospektive data. Desuden er udfordringen at uanset valg af test vil den prædiktive værdi i forhold til alvorlige bivirkninger være suboptimal med en lav sensitivitet og lav positiv prædiktiv værdi og alle patienter kan, uanset at DPD-aktiviteten er vurderet normal (såvel bestemt ved geno- eller fænotype), få alvorlige bivirkninger.

Samtidigt er det ikke alle med afvigende geno- eller fænotype der vil opleve alvorlige bivirkninger. Derfor kan det i samråd med patienten overvejes at titrere dosis op baseret på tæt monitorering og vurdering af bivirkninger inklusive vurdering af nadir i hæmatologiske parametre. Det bemærkes dog, at i det prospektive genotype- doserings studie af Henricks et al. (27) blev dosis kun øget hos 11 af 85 patienter med DPYD-varianter – dvs. hos kun hos 13%. Hos 5 af de 11 blev dosisøgningen ikke tolereret, og de måtte igen dosisreduceres. Yderligere én patient måtte helt ophøre med behandling efter dosisøgning grundet bivirkninger. Hos de resterende 5 patienter kunne behandlingen fortsætte uændret efter dosisøgning. I det danske kliniske studie (8) blev der forsøgt dosisøgning hos 13 ud af 22 patienter, som fik nedsat startdosering pga. DPYD-varianter. Hos kun 2 af disse patienter måtte man gå tilbage til 50% pga. bivirkninger.

Aktuelt er der en international diskussion af hvilken test, der er den mest optimale, og der er ikke faglig konsensus herom. I Holland og Frankrig, som har den største erfaring med bestemmelse af DPD-aktivitet i den kliniske rutine, anvendes altovervejende genotypebestemmelse (37) (Holland), henholdsvis altovervejende fænotypebestemmelse (Frankrig) (34). NHS i England har i november 2020 udgivet en ”Urgent Policy Statement” som anbefaler genotypebestemmelse før behandlingsstart – i dette statement er fænotypebestemmelse end ikke diskuteret (38).

Imidlertid vurderer herværende udvalg - som beskrevet ovenfor - at der kan være øget information ved at få foretaget såvel genotype- som fænotypetest og derfor bør som minimum en af testmetoderne være tilgængelige for de læger, der ordinerer 5-FU-præparater (25). Svartiden bør være maximalt 3 arbejdsdage, så opstart af behandlingen lever op til de tider der er beskrevet i kræftpakkeforløbene.

DPD spiller ingen væsentlig rolle i omsætningen af lægemidler, som ikke indeholder 5-FU. Derfor skal dosis af andre lægemidler ikke reduceres på baggrund af DPD-aktiviteten.

Bemærkninger og overvejelser

Hos hovedparten af disse patienter indgår behandling med 5-FU i den initiale systemiske behandling, og derfor er det nødvendigt at tiden til opstart af behandling opfylder kravene iht. kræftpakkeforløbene, der er standardiserede beskrivelser af patienternes samlede forløb inkl. anbefalede forløbstider for udvalgte elementer i standardforløbet. Dette betyder, at behandling oftest skal starte indenfor 10-12 kalenderdage, og dette giver ekstra store udfordringer til svartid på de nødvendige analyser.

4. Referencer

1. Lægemiddelstyrelsen. Opfølgning på udsendelse af sikkerhedsinformation om fluorouracil mv. og test for DPD-mangel 2020 [Available from: https://laegemiddelstyrelsen.dk/da/nyheder/2020/opfoelgning-paa-udsendelse-af-sikkerhedsinformation-om-fluorouracil-mv-og-test-for-dpd-mangel/.
2. European Medicine Agency. Fluorouracil and fluorouracil related substances (capecitabine, tegafur flucytosine) containing medicinal products. 2020.
3. 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. 2016;27(8):1386-422.
4. Meulendijks D, Cats A, Beijnen JH, Schellens JHM. Improving safety of fluoropyrimidine chemotherapy by individualizing treatment based on dihydropyrimidine dehydrogenase activity – Ready for clinical practice? Cancer Treatment Reviews. 2016;50:23-34.
5. 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. 2017;44(1):13-23.
6. Etienne-Grimaldi MC, Boyer JC, 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. 2017;12(5):e0175998.
7. 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. 2015;16(16):1639-50.
8. Paulsen NH, Pfeiffer P, Ewertz M, Fruekilde P, Feddersen S, Holm HS, et al. Implementation and clinical benefit of DPYD genotyping in a Danish cancer population. ESMO open. 2023;8(1):100782.
9. Wigle TJ, Povitz BL, Medwid S, Teft WA, Legan RM, Lenehan J, et al. Impact of pretreatment dihydropyrimidine dehydrogenase genotype-guided fluoropyrimidine dosing on chemotherapy associated adverse events. Clinical and translational science. 2021;14(4):1338-48.
10. Miura K, Kinouchi M, Ishida K, Fujibuchi W, Naitoh T, Ogawa H, et al. 5-FU Metabolism in Cancer and Orally-Administrable 5-FU Drugs. Cancers. 2010;2(3):1717-30.
11. Sundhedsstyrelsen. Pakkeforløb for kræft i tyk- og endetarm. 2022.
12. Yang R, Zhang Y, Zhou H, Zhang P, Yang P, Tong Q. Individual 5-Fluorouracil Dose Adjustment via Pharmacokinetic Monitoring Versus Conventional Body-Area-Surface Method. 2016;38(1):79-86.
13. Felici A, Verweij J, Sparreboom A. Dosing strategies for anticancer drugs: the good, the bad and body-surface area. 2002;38(13):1677-84.
14. van Staveren MC, Jan Guchelaar H, van Kuilenburg ABP, Gelderblom H, Maring JG. Evaluation of predictive tests for screening for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. 2013:395-89.
15. Beumer JH, Chu E, Allegra C, Tanigawara Y, Milano G, Diasio R. Therapeutic Drug Monitoring in Oncology: International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Recommendations for 5-Fluorouracil Therapy. 2019;105(3):598-613.
16. Morawska K, Goirand F, Marceau L, Devaux M, Cueff A, Bertaut A. 5-FU therapeutic drug monitoring as a valuable option to reduce toxicity in patients with gastrointestinal cancer. 2018;9(14):11559-71.
17. Kaldate RR, Haregewoin A, Grier CE, Hamilton SA, McLeod HL. Modeling the 5-Fluorouracil Area Under the Curve Versus Dose Relationship to Develop a Pharmacokinetic Dosing Algorithm for Colorectal Cancer Patients Receiving FOLFOX6. 2012;17(3):296-302.

18. Gamelin E, Delva R, Jacob J, Merrouche Y, Raoul JL, Pezet D. 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. 2008;26(13):2099-105.
19. Knikman JE, Gelderblom H, Beijnen JH, Cats A, Guchelaar H, Henricks LM. Individualized Dosing of Fluoropyrimidine-Based Chemotherapy to Prevent Severe Fluoropyrimidine-Related Toxicity: What Are the Options? 2021;109(3):591-604.
20. Amstutz U, Henricks LM, Offer SM, Barbarino J, Schellens JHM, Swen JJ. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing: 2017 Update. 2018;103(2):210-6.
21. Dolat M, Macaire P, Goirand F, Vincent J, Hennequin A, Palmier R. Association of 5-FU Therapeutic Drug Monitoring to DPD Phenotype Assessment May Reduce 5-FU Under-Exposure. 2020;13(11):416.
22. CPIC. Guideline for Fluoropyrimidines and DPYD. 2017.
23. Paulsen NH, Qvortrup C, Vojdeman FJ, Plomgaard P, Andersen SE, Ramlov A. Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) genotype and phenotype among Danish cancer patients: prevalence and correlation between DPYD genotype variants and P-uracil concentrations. 2022;61(11):1400-5.
24. de With M, Knikman J, de Man FM, Lunenburg C, Henricks LM, van Kuilenburg A. Dihydropyrimidine Dehydrogenase Phenotyping Using Pretreatment Uracil: A Note of Caution Based on a Large Prospective Clinical Study. 2022;112(1):62-8.
25. Arrivé C, Fonrose X, Thomas F, Roth G, Jacquet E, Brice A. Discrepancies between dihydropyrimidine dehydrogenase phenotyping and genotyping: What are the explanatory factors? 2023;89(8):2446-57.
26. Deenen MJ, Meulendijks D, Cats A, Sechterberger MK, Severens JL, Boot H. Upfront Genotyping of DPYD * 2A to Individualize Fluoropyrimidine Therapy: A Safety and Cost Analysis. 2016;34(3):227-34.
27. Henricks LM, Lunenburg C, de Man FM, Meulendijks D, Frederix GWJ, Kienhuis E. DPYD genotype-guided dose individualisation of fluoropyrimidine therapy in patients with cancer: a prospective safety analysis. 2018;19(11):1459-67.
28. Lunenburg C, Henricks LM, Dreussi E, Peters FP, Fiocco M, Meulendijks D. Standard fluoropyrimidine dosages in chemoradiation therapy result in an increased risk of severe toxicity in DPYD variant allele carriers. 2018;104:210-8.
29. Knikman JE, Wilting TA, Lopez-Yurda M, Henricks LM, Lunenburg C, de Man FM. Survival of Patients With Cancer With DPYD Variant Alleles and Dose-Individualized Fluoropyrimidine Therapy-A Matched-Pair Analysis. 2023;41(35):5411-21.
30. Pallet N, Hamdane S, Garinet S, Blons H, Zaanan A, Paillaud E. A comprehensive population-based study comparing the phenotype and genotype in a pretherapeutic screen of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. 2020;123(5):811-8.
31. Boige V, Vincent M, Alexandre P, Tejpar S, Landolfi S, Le Malicot K. 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. 2016;2(5):655-62.
32. Boisdron-Celle M, Remaud G, Traore S, Poirier AL, Gamelin L, Morel A. 5-Fluorouracil-related severe toxicity: A comparison of different methods for the pretherapeutic detection of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. 2007;249(2):271-82.
33. Meulendijks D, Henricks LM, Jacobs BAW, Aliev A, Deenen MJ, de Vries N. Pretreatment serum uracil concentration as a predictor of severe and fatal fluoropyrimidine-associated toxicity. 2017;116(11):1415-24.
34. Loriot MA, Masskouri F, Carni P, Le Malicot K, Seitz JF, Michel P. Intérêts et limites de la recherche du déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase dans le suivi des patients traités par fluoropyrimidines : résultats de deux enquêtes nationales de pratiques réalisées auprès des médecins et des biologistes. 2019;106(9):759-75.

35. Royer B, Launay M, Ciccolini J, Derain L, Parant F, Thomas F. Impact of renal impairment on dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) phenotyping. 2023;8(3):101577.
36. Lægemiddelstyrelsen. Lægemidler, som indeholder 5-fluorouracil (i.v.): Hos patienter med moderat eller svært nedsat nyrefunktion skal fænotypisering af DPDmangel (dihydropyrimidindehydrogenase-mangel) ved måling af uracilniveauer i blodet fortolkes med forsigtighed. 2024.
37. Lunenburg C, van der Wouden CH, Nijenhuis M, Crommentuijn-van Rhenen MH, de Boer-Veger NJ, Buunk AM. Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene–drug interaction of DPYD and fluoropyrimidines. 2020;28(4):508-17.
38. Nhs. Clinical Commissioning Urgent Policy Statement Pharmacogenomic testing for DPYD polymorphisms with fluoropyrimidine therapies. 2020.
39. Jacobs BA, Deenen MJ, Pluim D, et al. Pronounced between-subject and circadian variability in thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase enzyme activity in human volunteers. Br J Clin Pharmacol. 2016;82(3):706-16.
40. Henricks LM, Jacobs BAW, Meulendijks D, et al. Food-effect study on uracil and dihydrouracil plasma levels as marker for dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human volunteers. Br J Clin Pharmacol. 2018;84(12):2761-9.
41. Santé HAS. Méthodes de recherche d'un déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase visant à prévenir certaines toxicités sévères associées aux traitements incluant une fluoropyrimidine (5-fluorouracile ou capecitabine). 2023.
42. Chavani O, Jensen BP, Strother, et al. Development, validation and application of a novel liquid chromatography tandem mass spectrometry assay measuring uracil, 5,6-dihydrouracil, 5-fluorouracil, 5,6-dihydro-5-fluorouracil, α-fluoro-β-ureidopropionic acid and α-fluoro-β-alanine in human plasma. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2017;142:125-35.
43. Büchel B, Rhyn P, Schürch S, et al. LC-MS/MS method for simultaneous analysis of uracil, 5,6-dihydrouracil, 5-fluorouracil and 5-fluoro-5,6-dihydro-5-fluorouracil in human plasma for therapeutic drug monitoring and toxicity prediction in cancer patients. Biomedical Chromatography. 2013;27:7-16.
44. Rosmarin D, Palles C, Church D, et al. Genetic markers of toxicity from capecitabine and other fluorouracil-based regimens: investigation in the QUASAR2 study, systematic review, and meta-analysis. J Clin Oncol. 2014;32(10):1031-9.
45. Meulendijks D, Henricks LM, Sonke GS, 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. Lancet Oncol. 2015;16(16):1639-50.
46. Ejdrup Andersen S, Herluf Paulsen N, Pfeiffer P, Qvortrup C, Damkier P. Fæno- eller genotypetest for dihydropyrimidin dehydrogenase-mangel før fluoropyrimidinbehandling? UfL. 2021.

5. Metode

Litteratursøgning

Retningslinjerne er opnået ved gennemgang af den eksisterende litteratur ved forfatterne (ved ad hoc søgning i PubMed), samt ved at tage udgangspunkt i eksisterende nationale- og internationale guidelines som anført

Litteraturgennemgang

Se ovenfor

Formulering af anbefalinger

I samarbejde mellem forfatterne

Interessentinvolvering

Der er i denne omgang ikke involveret patienter men retningslinjen er udformet i et samarbejde mellem onkologer, kliniske farmakologer og klinisk biokemi.

Høring

Været i høring i relevante DMCG'er samt DSKB.

Godkendelse

Faglig godkendelse:
Retningslinjen er udarbejdet af og fagligt godkendt af forfattergruppen. Forfattergruppen er bredt nationalt repræsenteret.

Administrativ godkendelse:
Retningslinjen er administrativt godkendt af Sekretariatet for Kliniske Retningslinjer på Kræftområdet.

Behov for yderligere forskning

Som anført er mange af de underliggende data og dermed anbefalinger, uanset om man bruger geno- eller fænotypebestemmelse, er baseret på heterogene studiepopulationer, og de er ofte ekstrapoleret ud fra observationelle, retrospektive data og der er derfor brug for fortsat yderligere forskning.

Forfattere og habilitet

- Niels Herluf Paulsen, læge, ph.d., Forskningsenhed for Klinisk Farmakologi, Klinisk Institut, Syddansk Universitet
- Camilla Qvortrup, overlæge, ph.d., Afdeling for Kræftbehandling, Rigshospitalet, udpeget af DSKO
- Per Damkier, overlæge, professor, ph.d., Farmakologi, Odense Universitetshospital og Klinisk Institut, Syddansk Universitet, udpeget af DSKO

- Christina Christoffersen, overlæge ph.d. Afdeling for Klinisk Biokemi, Rigshospitalet, udpeget af DSKB
- Fie Juhl Vojdeman, cheflæge, ph.d., Klinisk Biokemisk Afdeling, Holbæk Sygehus, udpeget af DSKB
- Stig Ejdrup Andersen, ledende overlæge, ph.d., Klinisk Farmakologisk Enhed, Sjællands Universitetshospital, Roskilde
- Per Pfeiffer, overlæge, professor, ph.d., Onkologisk afdeling, Odense Universitetshospital og Klinisk Institut, Syddansk Universitet, udpeget af DSKO
- Frida Emanuelsson, læge, ph.d., Afdeling for Kræftbehandling, Rigshospitalet og Afdeling for Klinisk Biokemi, Rigshospitalet.

Jf. Habilitetspolitikken henvises til deklaration via Lægemiddelstyrelsens hjemmeside for detaljerede samarbejdsrelationer: https://laegemiddelstyrelsen.dk/da/godkendelse/sundhedspersoners-tilknytning-til-virksomheder/lister-over-tilknytning-til-virksomheder/apotekere,-laeger,-sygeplejersker-og-tandlaeger

Ingen interessekonfikter i forfatter gruppen

Plan for opdatering

Opdateres ved fremkomst af nye væsentlige data ellers min. hver 3. år dvs. 2027.

Version af retningslinjeskabelon

Retningslinjen er udarbejdet i version 9.3 af skabelonen.

6. Monitorering

Udvikling af kvaliteten på dette område understøttes af viden fra cancer databaserne i regi af Regionernes Kliniske Kvalitetsudviklingsprogram (RKKP), idet indikatorerne i databasen skal belyse relevante kliniske retningslinjer

Den kliniske kvalitetsdatabases styregruppe har mandatet til at beslutte databasens indikatorsæt, herunder hvilke specifikke processer og resultater der monitoreres i databasen.

Aktuelt foreligger ikke registreringer i databasen på måling af DPD-analyser

7. Bilag

Appendix A: Analytiske forhold

Appendix A

Test for aktivitet af dihydropyrimidine dehydrogenase forud for behandling med 5-Fluorouracil- (i.v.), capecitabin- og tegafurholdige
præparater
Version 2.0

Bestemmelse af fænotype

Enzymet dihydropyrimidin-dehydrogenase (DPD) omdanner uracil til dihydrouracil. DPD er også det centrale og hastighedsbegrænsende enzym i omsætningen af 5-FU til inaktive metabolitter, hvorfor der ved nedsat aktivitet af DPD er øget risiko for 5-FU relateret toksicitet. DPD er primært udtrykt i leveren, men også i perifere monuklære celler (PMBCs). Til bestemmelse af DPD-aktiviteten har man forskningsmæssigt målt enzymets aktivitet i PMBCs med radioaktivt mærket substrat og dette opfattes som referencemetoden. Dette biologiske assay er ikke egnet til diagnostik, da det er tids- og arbejdskrævende, samt svært at standardisere. Plasmakoncentrationen af uracil kan udnyttes som endogen markør for DPD-aktiviteten.

Præanalytiske forhold

Der er beskrevet døgnvariation for plasmakoncentrationen af uracil, som svinger med laveste niveau kl 17 og højeste kl. 5:00 fra henholdsvis 8,8 ng/ml til 12,2 ng/ml (39). Jf. den franske anbefaling er døgnvariationen ikke så betydelig at prøvetagningstidspunktet skal standardiseres. Det er ydermere beskrevet at plasma uracil falder i timerne efter et måltid (14,2 ng/ml til 9,2 ng/ml) (40), hvilket den franske anbefaling ikke forholder sig til. Der foreligger ingen data om døgnrytmevariation hos patienter med kræft. Grænseværdien på 16 ng/ml og 150 ng/ml, er baseret på prøver udtaget uden tids- eller faste restriktioner, hvorfor samme præ-analytiske forhold er hensigtsmæssige. Det anbefalede prøvemateriale er antikoaguleret plasma. Hvis prøven udtages ved stuetemperatur, skal prøvetagningsrøret centrifugeres inden for 1 time og 30 minutter, og plasma afpipetteres. Hvis prøverøret tages på køl, skal centrifugering ske indenfor 4 timer, hvorefter plasma afpipetteres (41). Disse tidsgrænser kan være kortere, afhængig af den lokale prøveforberedelsesprocedure. Uracil er stabilt i EDTA-plasma ved stuetemperatur i 6 timer og i køleskab 3-6 dage (42). Fryses plasmaet er uracil stabilt ved -20 i 6 måneder og tolererer 3 x fryse/tø cykler (43).

Analyse

Koncentrationen af uracil i plasma kan måles ved High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) kombineret med enten detektion med ultraviolet lys (UV) eller massespektrometer (MS). Der eksisterer ikke kommercielt tilgængelige CE-mærkede assays til plasma uracil måling og materialer til kalibratorer og internkvalitetssikring (dag til dag variation) skal for nuværende fremstilles ”in house”. Til ekstern kvalitetssikring (variation mellem laboratorier og sikring af korrekt koncentrationsniveau) er identificeret ét program i Europa: Assurance Qualité des Laboratoires de Biologie Medicale Association (ASQUALAB) Paris, Frankrig. Analysen er en batch analyse (et hold prøver samles sammen til analyse), hvor prøveforberedelsen udføres i løbet af dagen og instrumentet typisk analyser natten over med svar den efterfølgende dag. Dette giver en analysetid på 1 – 2 dage.

Grænser og fortolkning

Måleresultat afgives som en kontinuerlig variabel medfølgende grænser til fortolkning som angivet i Tabel 1.

Bestemmelse af genotype:

Genotype kan bestemmes vha. flere typer af metoder, der undersøger for 4 single-nucleotide polymorfier (SNPs), der dækker ca. 98% af de varianter i DPYD-genet, som kan bidrage til nedsat DPD-aktivitet hos kaukasiere (44-46).

Præanalytiske forhold

Analyser af DNA kræver ingen særlige præanalytiske forhold. Der anvendes som oftest enten citrat eller EDTA-fuldblod, der kan sendes med post ved stuetemperatur.

Analyse

Sanger sekventering:

Sekvensanalyse af nukleotider i DNA-fragmenter under 1000 bp. Guldstandard for validering af DNA-sekvens. Sekvens aflæses vha. gel-elektroforese/kapillær-elektroforese og mutationer aflæses i sekvens vha. specialdesignet software.

Taqman assay:

Probe(r) er designet til at binde omkring området med den DNA polymorfi, der undersøges for. Derfor detekteres kun de polymorfier, proberne kan bindes til. Fund skal evt. verificeres med Sanger sekventering, men dette er ikke rutine i alle laboratorier.

Direkte metode (LAMP):

Kræver alene EDTA-fuldblod – ingen DNA-oprensning. Loop-mediated amplification af den region rundt om aktuel DNA polymorfi der detekteres med fluorescens ved smeltekurve analyse. Der er 6 specifikke primere i LaCARs kit, og de analyseres i særskilte kørsler.

Grænser og fortolkning

Afhængig af software til svarafgivelse, kan mutationer aflæses fra rådata indlæst i eksternt analysesoftware (for Sanger og Taqman) eller aflæses vha. software, som er indbygget i analyseapparatet, hvor data eksporteres til (LaCAR). Det kræver teknisk trænet personale at aflæse disse metoder. Der henvises i øvrigt til instrukser i brug af specifikt software.

Testkapacitet, svartid og analyseomkostninger

For begge typer test er svartiden afhængig af både prøvens transporttid til laboratoriet og af antallet af analyser på laboratoriet, da de udføres som 'batch'-analyser (Tabel 3). Således forventes en samling af analyserne på få laboratorier at kunne nedbringe svartiden, da der i så fald kan analyseres prøver på alle hverdage. For genotypetesten vil der være stordriftsfordele ved at anvende Taqman efterfulgt af Sanger sekventering i udvalgte tilfælde. For fænotypetesten (P-Uracil) skal prøverne sendes frosset og den korte svartid vil kræve hyppige forsendelser, hvilket er omkostningsfyldt især mellem regioner.

Svarafgivelsen er ikke standardiseret, og for især genotypetesten vil det være hensigtsmæssigt, svarafgivelsen standardiseres på tværs af laboratorier og teknik for at lette klinikernes fortolkning af svaret og tilpasning af behandlingen med 5-FU (se Tabel 1 under oversigt over anbefalinger). For P-Uracil eksisterer grænseværdier til identifikation af patienter med delvist og fuldstændig DPD-mangel, som angivet i rekommandationen fra Lægemiddelstyrelsen.

Da prisen per analyse varierer fra 200 til 850 kr. ekskl. transport, vil regionerne skønsmæssigt blive påført en årlig merudgift. Hertil kommer engangsudgifter til opbygning af testkapaciteten.

Tabel 3: Oversigt over metode, opsætning, prøvehåndtering, svartid og pris i Danmark i 2023.

Test	Metode	Opsætning	Prøvehåndtering	Svartid	Pris pr. analyse (ekskl. omkostninger til transport)
Genotypebestemmelse (4 SNPs)	Sanger sekventering	DNA oprenses. Analysen sættes op på klinisk biokemisk apparatur.	Fuldblod sendes ved stuetemperatur samme dag	5 hverdage + evt. transport	600-850 kr.
Genotypebestemmelse (4 SNPs)	TaqMan	D.o.	D.o.	2-5 hverdage + evt. transport	150-200 kr.
Genotypebestemmelse (4 SNPs)	Loopmediated isothermal amplification (LAMP)	Kommercielt kit fra LaCAR til klinisk biokemisk apparatur.	D.o.	Samme dag + evt. transport	600-700 kr.
Fænotypebestemmelse	P-Uracil	LC-MS, 'in-house' metode	Prøven centrifugeres og afpipetteres inden 90 min. Plasma/serum sendes på køl/frost samme dag.	2-5 hverdage + evt. transport	200-400 kr.

LC-MS: *Væskekromatografi-massespektrometri*

8. Om denne kliniske retningslinje

Denne kliniske retningslinje er udarbejdet i et samarbejde mellem Danske Multidisciplinære Cancer Grupper (DMCG.dk) og Regionernes Kliniske Kvalitetsudviklingsprogram (RKKP). Indsatsen med retningslinjer er forstærket i forbindelse med Kræftplan IV og har til formål at understøtte en evidensbaseret kræftindsats af høj og ensartet kvalitet i Danmark. Det faglige indhold er udformet og godkendt af den for sygdommen relevante DMCG. Sekretariatet for Kliniske Retningslinjer på Kræftområdet har foretaget en administrativ godkendelse af indholdet. Yderligere information om kliniske retningslinjer på kræftområdet kan findes på: www.dmcg.dk/kliniske-retningslinjer

Retningslinjen er målrettet klinisk arbejdende sundhedsprofessionelle i det danske sundhedsvæsen og indeholder systematisk udarbejdede udsagn, der kan bruges som beslutningsstøtte af fagpersoner og patienter, når de skal træffe beslutning om passende og korrekt sundhedsfaglig ydelse i specifikke kliniske situationer.

De kliniske retningslinjer på kræftområdet har karakter af faglig rådgivning. Retningslinjerne er ikke juridisk bindende, og det vil altid være det faglige skøn i den konkrete kliniske situation, der er afgørende for beslutningen om passende og korrekt sundhedsfaglig ydelse. Der er ingen garanti for et succesfuldt behandlingsresultat, selvom sundhedspersoner følger anbefalingerne. I visse tilfælde kan en behandlingsmetode med lavere evidensstyrke være at foretrække, fordi den passer bedre til patientens situation.

Retningslinjen indeholder, ud over de centrale anbefalinger (kapitel 1 – quick guide), en beskrivelse af grundlaget for anbefalingerne – herunder den tilgrundliggende evidens (kapitel 3), referencer (kapitel 4) og anvendte metoder (kapitel 5).
Anbefalinger mærket A baserer sig på stærkeste evidens og anbefalinger mærket D baserer sig på svageste evidens. Yderligere information om styrke- og evidensvurderingen, der er udarbejdet efter "Oxford Centre for Evidence-Based Medicine Levels of Evidence and Grades of Recommendations", findes her:

Generelle oplysninger om bl.a. patientpopulationen (kapitel 2) og retningslinjens tilblivelse (kapitel 5) er også beskrevet i retningslinjen. Se indholdsfortegnelsen for sidehenvisning til de ønskede kapitler.

Retningslinjeskabelonen er udarbejdet på baggrund af internationale kvalitetskrav til udvikling af kliniske retningslinjer som beskrevet af både AGREE II, GRADE og RIGHT.

For information om Sundhedsstyrelsens kræftpakker – beskrivelse af hele standardpatientforløbet med angivelse af krav til tidspunkter og indhold – se for det relevante sygdomsområde: https://www.sst.dk/

Denne retningslinje er udarbejdet med økonomisk støtte fra Sundhedsstyrelsen (Kræftplan IV) og RKKP.