

Algemene achtergrondtekst Farmacogenetica – Dihydropyrimidinedehydrogenase (DPD)

Laatst gewijzigd: 9 mei 2019

Begrippen in de farmacogenetica

Het **genotype** is de erfelijke informatie over een bepaalde eigenschap van een individu. Deze informatie bevindt zich in de genen, in het dna dat bestaat uit nucleotiden. Het deel van het dna met informatie voor één specifieke erfelijke eigenschap wordt **gen** genoemd. Het dna is verdeeld in chromosomen die meestal in paren voorkomen. Een persoon heeft van een gen over het algemeen twee kopieën (**allelen**), een op elk van de chromosomen van een chromosomenpaar.

Het **fenotype** geeft aan wat de uiteindelijke verschijningsvorm van een bepaald genotype is. Dit kan de functionaliteit van een eiwit (bijvoorbeeld het enzym of de receptor) betreffen, maar ook de verschijningsvorm van een ziekte. Het fenotype vloeit voort uit het genotype dat men bezit, de mate van expressie van het desbetreffende gen en de combinatie met omgevingsfactoren bijvoorbeeld comedicaatie, voeding en ziekte-toestanden.

Van dna dat codeert voor een eiwit kunnen variaties bestaan in de bevolking. Variaties kunnen er toe leiden dat allelen coderen voor niet of minder actieve eiwitten. De eenvoudigste vorm van variaties zijn '**single-nucleotide polymorphisms**' (**SNP's**), waarbij een bepaald deel van een gen slechts in één nucleotide verschilt. Als een genvariant bij ten minste 1% van de bevolking voorkomt, spreekt men van een genetisch **polymorfisme**.

Wildtype is de benaming voor het meest voorkomende actieve allel. Voor een bepaald allel kan sprake zijn van verschillende polymorfismen.

Namen van genen worden schuingedrukt weergegeven. In sommige gevallen kan de afkorting van de naam van een gen afwijken van die van de naam van het genproduct. Dit is bijvoorbeeld het geval voor dihydropyrimidinedehydrogenase, waarbij het gen wordt afgekort tot *DPYD* en het enzym tot DPD.

Veranderde metabole capaciteit en klinische gevolgen

Fluorouracil wordt voor meer dan 80% door dihydropyrimidinedehydrogenase (DPD) omgezet in de inactieve metaboliet dihydrofluorouracil. DPD is vooral aanwezig in de lever, maar ook in de meeste andere weefsels. Een lagere metabole activiteit van DPD leidt tot verhoogde intracellulaire concentraties van fluorodeoxyuridine-monofosfaat, de actieve metaboliet van fluorouracil en diens prodrug capecitabine. Hierdoor neemt het risico op bijwerkingen als neutropenie, trombopenie en 'hand-foot'-syndroom toe.

Variaties in het gen dat codeert voor het DPD-enzym kunnen leiden tot een verlaagde of afwezige enzymactiviteit. Op basis van de aanwezige metabole capaciteit van DPD en de uit te voeren aanpassing van de therapie kan de populatie in vijf fenotypes worden opgedeeld (hieronder gerangschikt naar afnemende activiteit):

- genactiviteitsscore 2 (AS 2): 'normale' metabole capaciteit (normal metaboliser (NM); twee volledig actieve allelen)
- genactiviteitsscore 1,5 (AS 1,5): verlaagde metabole capaciteit (één volledig actief en één verminderd actief allel)
- genactiviteitsscore 1 (AS 1): gehalveerde metabole capaciteit veroorzaakt door één enkele genvariant (één volledig actief en één inactief allel)
- fenotypering (FENO): sterk verlaagde metabole capaciteit (twee verminderd actieve allelen of één inactief allel en één verminderd actief allel of meer algemeen twee genvarianten die tot een verminderd actief allel leiden of één genvariant die tot een inactief allel leidt en één genvariant die tot een verminderd actief allel leidt)
- genactiviteitsscore 0 (AS 0): afwezige metabole capaciteit (twee inactieve allelen of meer algemeen twee genvarianten die tot een inactief allel leiden)

Ook binnen een groep met een bepaalde genactiviteitsscore bestaat variatie in de metabole capaciteit.

Omdat het genotype slechts voor een deel de metabole capaciteit bepaalt, zijn adviezen voor dosisaanpassing op basis van het genotype niet meer dan een handvat om de gewenste intracellulaire concentratie van de actieve metaboliet te bereiken. Voor fluorouracil kan farmacokinetische dosisaanpassing (op basis van plasma-concentraties of AUC) mogelijk nuttig zijn om de dosering te optimaliseren. Hoewel capecitabine grotendeels in de weefsels wordt omgezet in fluorouracil, kan farmacokinetische dosisaanpassing (op basis van de plasma-concentraties of AUC van fluorouracil) ook voor capecitabine worden toegepast.

Genotypering

Bij genotypering wordt het genotype vastgesteld. Het geeft aan welke varianten van het gen voor DPD het geteste individu bezit. In het verleden kregen genvarianten een naam die bestaat uit een ster (*) en een nummer, een voorbeeld van een mogelijk DPD-genotype is *DPYD*1/*2A*. Later ontdekte genvarianten zijn echter niet opgenomen in deze nomenclatuur. Daarom wordt een deel van de allelen aangegeven met het nucleotidenummer gevolgd door de nucleotideverandering (of met het aminozuurnummer voorafgegaan door het symbool van het aminozuur in het wildtype eiwit en gevolgd door het symbool van het aminozuur in de variant).

Voor DPD bestaan zeer veel variaties, er zijn meer dan 30 verschillende genvarianten geïdentificeerd en beschreven in de literatuur. De varianten die tot een verlaagde DPD-activiteit leiden, komen alle in lage frequentie voor en niet van elke variant is even goed bekend of de DPD-activiteit veranderd is, waardoor een betrouwbare genotyperingstest voor DPD ontbreekt. Een aantal allelen is in Tabel 1 weergegeven, ook de functionaliteit is hierin opgenomen. Bij genotypering wordt meestal gescreend op slechts de meest voorkomende en best onderbouwde allelvarianten. Op dit moment zijn dit *2A, *13, 2846A>T en 1236G>A. Hierdoor kan het zijn dat minder vaak voorkomende varianten gemist en ten onrechte als wildtype getypeerd worden.

Tabel 1. *DPYD*-genvarianten en metabole capaciteit

metabole capaciteit	sterke onderbouwing voor functionaliteit (of in het geval van *1 per definitie)	matige onderbouwing voor functionaliteit (<i>in vitro</i> en klinische/ex vivo data)	zwakke onderbouwing voor functionaliteit (alleen <i>in vitro</i> data en/of beperkte klinische/ex vivo data)
volledig functioneel (wildtype; genactiviteits-score 1)	*1 *5 = 1627A>G *9A = 85T>C	*4 = 1601G>A *6 = 2194G>A *9B = 85T>C + 2657G>A *11 = 1003G>T 62G>A 496A>G IVS10-15T>C 1896C>T	
verminderd functioneel (genactiviteitsscore 0,5)	1236G>A / 1129-5923C>G (hapB3) ^{\$} 2846A>T		
volledig disfunctioneel (inactief of nulallel; genactiviteitsscore 0)	*2A = IVS14+1G>A *13 = 1679T>G [%]	*3 = 1897delC *7 = 295-298delTCAT *8 = 703C>T *10 = 2983G>T *12 = 1156G>T	257C>T ^{&} 300C>A ^{&} 1651G>A 1024G>A ^{&} 1025A>G ^{&} 1475C>T ^{&} 1774C>T ^{&} duplicatie exons 17+18 [%]

^{\$} Variant 1236G>A, die niet tot een aminozuurverandering leidt, is in compleet linkage disequilibrium met variant 1129-5923C>G, die tot afwijkende splicing van een deel van het mRNA leidt, waarbij een prematuur stopcodon ontstaat. De resulterende DPD-activiteit bedraagt ongeveer de helft van de normale activiteit. Beide varianten maken deel uit van haplotype B3.

[%] Voor deze varianten is er bewijs uit studies of uit een casus waarin de DPD-activiteit werd gemeten, dat de varianten (aminozuur-substitutie (Ile560Ser) voor *13) leiden tot een inactief enzym.

[&] Deze varianten werden gevonden in een casus met toxiciteit en hebben *in vitro* een zeer lage enzymactiviteit.

Vertaling genotype naar fenotype

Wanneer het genotype van een individu is vastgesteld en men wil weten wat de metabole capaciteit voor DPD is, moet het genotype naar het fenotype worden 'vertaald'. Als er sprake is van twee genvarianten die niet beide tot een inactief allel leiden, moet dit worden vertaald in het fenotype 'fenotypering' ('FENO'). Als dit niet het geval is moet voor de vertaling van het genotype naar het fenotype de genactiviteitsscore van beide genvarianten (beide allelen) bij elkaar worden opgeteld (zie tabel 2). Indien er meer dan twee genvarianten zijn, dient het genotype te worden vertaald in 'genactiviteitsscore 0' ('AS 0') als twee of meer van deze genvarianten tot een inactief allel leiden en in 'fenotypering' ('FENO') als dit niet het geval is. In weinig voorkomende gevallen kunnen bij twee verschillende genvarianten, de varianten op hetzelfde allel liggen in plaats van op verschillende allelen. Omdat bij twee of meer genvarianten altijd wordt geadviseerd om de DPD-activiteit te bepalen en de dosering overeenkomstig aan te passen, hoeft hier geen rekening mee te worden gehouden bij de vertaling van het genotyperingsresultaat naar het voorspeld fenotype.

Tabel 2. Verband tussen genotyperingsresultaat en voorspeld fenotype

genotyperingsresultaat	voorspeld fenotype
geen genvariant die tot verminderde DPD-activiteit leidt (*1/*1)	genactiviteitsscore 2 (normal metaboliser)
één verminderd functionele genvariant (*1/1236A of *1/2486T)	genactiviteitsscore 1,5
één volledig disfunctionele genvariant (*1/*2A of *1/*13)	genactiviteitsscore 1
twee verminderd functionele genvarianten of één volledig disfunctionele genvariant en één verminderd functionele genvariant (1236A/1236A, 2486T/2486T, zowel 1236A als 2486T, zowel *2A als 1236A, zowel *2A als 2486T, zowel *13 als 1236A of zowel *13 als 2486T)	fenotypering
twee volledig disfunctionele genvarianten (*2A/*2A, *13/*13 of zowel *2A als *13)	genactiviteitsscore 0

Fenotypering

Bij fenotypering wordt het fenotype vastgesteld, dit houdt in: het meten of schatten van de activiteit van het DPD-enzym. Mogelijke fenotyperingsmethoden zijn het bepalen van de DPD-enzymactiviteit in perifere mononucleaire bloedcellen [Kuilenburg, 2000] of het meten van de uracilconcentraties in plasma of urine [Ploylearmsaeng, 2006], waarbij de eerste methode de beste betrouwbaarheid heeft. Afhankelijk van de exacte gebruikte methode voor de bepaling, is de gemiddelde Kaukasische DPD-enzymactiviteit $9,9 \pm 2,8$ nmol/uur per mg eiwit [Kuilenburg, 2002] of $9,6 \pm 2,2$ nmol/uur per mg eiwit [Pluim 2015].

Methoden die tegenwoordig minder worden gebruikt zijn de $2\text{-}^{13}\text{C}$ -uracilademtest [Mattison, 2004] of de bepaling van uracil/dihydrouracilratio's in het plasma [Ciccolini, 2006; Zhou, 2007]. In de eerste test wordt de vorming van $^{13}\text{CO}_2$ gemeten die ontstaat bij afbraak van $2\text{-}^{13}\text{C}$ -uracil door DPD en andere enzymen van de katabole route van pyrimidines. In de tweede test wordt de omzetting van het endogene substraat uracil gemeten. Ook is het mogelijk om de activiteit van het DPD-enzym te bepalen door het analyseren van de omzetting van een eenmalige dosis uracil [van Staveren, 2013].

Alle bestaande fenotyperingsmethoden hebben nadelen ofwel op het gebied van nauwkeurigheid en sensitiviteit ofwel op het gebied van uitvoerbaarheid voor screening van grote aantallen patiënten (kosten en benodigde tijd).

Etnische variatie in prevalentie fenotypes en allelfrequentie

In de Kaukasische populatie heeft ongeveer 3-5% een partiële DPD-deficiëntie en 0,1-0,2% een volledige DPD-deficiëntie. In de Afrikaans-Amerikaanse populatie heeft ongeveer 8% een partiële DPD-deficiëntie.

De frequentie van voorkomen van de verschillende DPD-allelen alsmede van de verschillende fenotypes lijkt sterk te variëren tussen verschillende naties en etnische groeperingen. In de Nederlandse bevolking bevat het meest voorkomende verminderd functionele allel de genvariant 1236A en het meest voorkomende volledig disfunctionele allel de genvariant *2A.

Gevonden fenotype- en allelfrequenties per bevolkingsgroep zijn weergegeven in tabel 5.

Tabel 5. Etnische variatie in prevalentie fenotypes en genvariantfrequentie

ras	land	prevalentie fenotype (%)			genvariantfrequentie (%)			
		PM [#]	IM [#]	NM [#]	*2A	2846 A>T	1236 G>A	*13
Kaukasisch		0,1-0,2	3-5	95-97	0-1,4	1	0,3-3,7	0,1

	Nederland				0,6	0,7	2,5-3,7	
Aziatisch	ZW-Azië				0-0,75			
	Oost-Azië				0-2,7	0		
Afrikaans- Amerikaans			8		0			

#: Onder de begrippen PM (poor metaboliser), IM (intermediate metaboliser) en NM (normal metaboliser) wordt in bovenstaande tabel het volgende verstaan:

PM: 0 volledig functionele allelen (genactiviteitsscore 0 of fenotypering)

IM: 1 volledig functioneel allel (genactiviteitsscore 1 of 1,5)

NM: 2 volledig functionele allelen (genactiviteitsscore 2)

Literatuur

- Mattison LK et al. Rapid identification of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency by using a novel 2-13C-uracil breath test. Clin Cancer Res 2004;10:2652–8.
- Ciccolini J et al. A rapid and inexpensive method for anticipating severe toxicity to fluorouracil and fluorouracil-based chemotherapy. Ther Drug Monit 2006;28:678–85.
- Ployearmsaeng SA et al. How may anticancer chemotherapy with fluorouracil be individualised? Clin Pharmacokinet. 2006;45:567-92.
- Van Kuilenburg AB et al. Pitfalls in the diagnosis of patients with a partial dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. Clin Chem 2000;46:9-17.
- Zhou ZW et al. The dihydrouracil/uracil ratios in plasma and toxicities of 5-fluorouracil-based adjuvant chemotherapy in colorectal cancer patients. Chemotherapy 2007;53:127–131.
- van Staveren MC et al. Evaluation of predictive tests for screening for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. Pharmacogenomics J 2013;13:389-95.
- Tuchman M et al. Familial pyrimidinemia and pyrimidinuria associated with severe fluorouracil toxicity. N Engl J Med 1985;313:245–9.
- Mattison LK et al. Increased prevalence of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency in African-Americans compared with Caucasians. Clin Cancer Res 2006;12:5491–5.
- Van Kuilenburg ABP et al. Lethal outcome of patient with complete dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency after administration of 5-fluorouracil: frequency of the common IVS14 + 1G > A mutation causing DPD deficiency. Clin Cancer Res 2001;7:1149–53.
- Sulzyc-Bielicka V et al. 5-Fluorouracil toxicity-attributable IVS14 + 1G > A mutation of the dihydropyrimidine dehydrogenase gene in Polish colorectal cancer patients. Pharmacol Rep 2008;60:238-42.
- Morel A et al. Clinical relevance of different dihydropyrimidine dehydrogenase gene single nucleotide polymorphisms on 5-fluorouracil tolerance. Mol Cancer Ther 2006;5:2895-904.
- Seck K et al. Analysis of the DPYD gene implicated in 5-fluorouracil catabolism in a cohort of Caucasian individuals. Clin Cancer Res. 2005 Aug 15;11(16):5886-92.
- Yamaguchi K et al. Germline mutation of dihydropyrimidine dehydrogenase gene among a Japanese population in relation to toxicity to 5-fluorouracil. Jpn J Cancer Res 2001;92:337-42.
- Deenen MJ et al. Standard-dose tegafur combined with uracil is not safe treatment after severe toxicity from 5-fluorouracil or capecitabine. Ann Intern Med 2010;153:767-8.
- Rosmarin D et al. A candidate gene study of capecitabine-related toxicity in colorectal cancer identifies new toxicity variants at DPYD and a putative role for ENOSF1 rather than TYMS. Gut 2015;64:111-20.
- Deenen MJ et al. Relationship between single nucleotide polymorphisms and haplotypes in DPYD and toxicity and efficacy of capecitabine in advanced colorectal cancer. Clin Cancer Res 2011;17:3455-68.
- Kristensen MH et al. Variants in the dihydropyrimidine dehydrogenase, methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase genes predict early toxicity of 5-fluorouracil in colorectal cancer patients. J Int Med Res 2010;38:870-83.
- Lunenburg CA et al. Evaluation of clinical implementation of prospective DPYD genotyping in 5-fluorouracil- or capecitabine-treated patients. Pharmacogenomics 2016;17:721-9.
- Henricks LM et al. Capecitabine-based treatment of a patient with a novel DPYD genotype and complete dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. Int J Cancer 2018;142:424-30.
- Van Kuilenburg et al. Increased risk of grade IV neutropenia after administration of 5-fluorouracil due to a dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency: high prevalence of the IVS14+1g>a mutation. Int J Cancer 2002;101:253-8.
- Pluim D et al: Improved pharmacodynamic assay for dihydropyrimidine dehydrogenase activity in peripheral blood mononuclear cells. Bioanalysis 2015;7:519-29.

- Henricks LM et al. DPYD genotype-guided dose individualisation of fluoropyrimidine therapy in patients with cancer: a prospective safety analysis. Lancet Oncol 2018;19:1459-67 en persoonlijke communicatie (getitreeerde dosis en mediane DPD-activiteit).
- van Kuilenburg ABP et al. Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency: homozygosity for an extremely rare variant in DPYD due to uniparental isodisomy of chromosome 1. JIMD Rep 2019;45:65-9.
- <https://cpicpgx.org/guidelines/guideline-for-fluoropyrimidines-and-dpyd/>, geraadpleegd op 26-2-2019.