

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2016

Thèse n° 121

THÈSE pour l'obtention du
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Après soutenance
DU MÉMOIRE DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
PHARMACIE HOSPITALIÈRE

Présentée et soutenue publiquement
Le 11 octobre 2016 à Limoges

Par Marie ANQUETIL
Née le 28 mai 1990 à Clermont-Ferrand

**ADAPTATIONS POSOLOGIQUES DU 5-FLUOROURACILE, DE LA
CAPÉCITABINE ET DE L'IRINOTÉCAN APRÈS GÉNOTYPAGE DE LA *DPYD* ET
DE L'*UGT1A1* ET PHÉNOTYPAGE DE LA *DPD* :
ANALYSE DES PRATIQUES AU CHU DE LIMOGES ET À L'INSTITUT
UNIVERSITAIRE DU CANCER DE TOULOUSE (IUCT) ONCOPOLE**

Directrice de thèse :
Madame le Docteur Aline LAGARDE

JURY

Pr S. CRAUSTE-MANCIET, Professeur des Universités et Praticien Hospitalier Présidente
Pr G. DES GUETZ, Professeur des Universités et Praticien Hospitalier..... Membre
Pr N. PICARD, Professeur des Universités et Praticien Hospitalier..... Membre
Dr F. THOMAS, Maître de Conférences et Praticien Hospitalier..... Membre

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2016

Thèse n°121

THÈSE pour l'obtention du
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Après soutenance
DU MÉMOIRE DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
PHARMACIE HOSPITALIÈRE

Présentée et soutenue publiquement
Le 11 octobre 2016 à Limoges

Par Marie ANQUETIL
Née le 28 mai 1990 à Clermont-Ferrand

**ADAPTATIONS POSOLOGIQUES DU 5-FLUOROURACILE, DE LA
CAPÉCITABINE ET DE L'IRINOTÉCAN APRÈS GÉNOTYPAGE DE LA *DPYD* ET
DE L'*UGT1A1* ET PHÉNOTYPAGE DE LA *DPD* :
ANALYSE DES PRATIQUES AU CHU DE LIMOGES ET À L'INSTITUT
UNIVERSITAIRE DU CANCER DE TOULOUSE (IUCT) ONCOPOLE**

Directrice de thèse :
Madame le Docteur Aline LAGARDE

JURY

Pr S. CRAUSTE-MANCIET, Professeur des Universités et Praticien Hospitalier Présidente
Pr G. DES GUETZ, Professeur des Universités et Praticien Hospitalier..... Membre
Pr N. PICARD, Professeur des Universités et Praticien Hospitalier..... Membre
Dr F. THOMAS, Maître de Conférences et Praticien Hospitalier..... Membre

Remerciements

À ma présidente de jury,

Madame le Professeur Sylvie CRAUSTE-MANCIET,

Professeur des Universités, Pharmacien Praticien Hospitalier

Hôpital Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux

Je vous remercie d'avoir aussi spontanément accepté de présider mon jury de thèse et de vous être déplacée jusqu'à Limoges pour assister à la présentation de ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

À ma directrice de thèse,

Madame le Docteur Aline LAGARDE,

Pharmacien Praticien Hospitalier,

CHU de Limoges

Un grand merci à vous, Aline, de m'avoir accueillie dans votre unité de préparation des anticancéreux durant mes dernières années d'internat. J'ai beaucoup appris à vos côtés et vous m'avez en quelque sorte transmis votre passion pour la pharmacie oncologique.

Merci de m'avoir accompagnée et encouragée dans mes différents projets et d'avoir accepté d'encadrer cette thèse, la dernière pour vous, avant de commencer une nouvelle vie hors des murs de la pharmacie.

À Monsieur le Professeur Gaëtan DES GUETZ,

Professeur des Universités, Médecin Praticien Hospitalier,

CHU de Limoges

Un grand merci à vous de m'avoir accueillie dans le service d'oncologie durant un semestre. J'ai beaucoup appris durant ces six mois, et j'ai vu la nécessité et l'importance des liens à tisser entre les médecins oncologues et les pharmaciens hospitaliers.

Merci de m'avoir proposé de travailler sur ce sujet de thèse très intéressant, réunissant à la fois un côté médical et pharmaceutique.

À Monsieur le Professeur Nicolas PICARD

*Professeur des Universités, Pharmacien Praticien Hospitalier
Département de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance
CHU de Limoges*

Je tenais à vous remercier pour votre grande disponibilité, vos conseils et votre expertise en pharmacogénétique qui m'ont beaucoup apporté dans la réalisation de ce travail.

Merci également de m'avoir proposé de participer au projet « FUSAFE », qui m'a permis de travailler avec des biologistes passionnés de pharmacogénétique et m'a beaucoup appris sur les déficits en DPD.

Je vous remercie également d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

À Madame le Docteur Fabienne THOMAS

*Maître de Conférences des Universités, Pharmacien Praticien Hospitalier
Institut Universitaire du Cancer de Toulouse Oncopole*

Merci pour votre implication dans ce projet, et ce travail en collaboration avec l'Oncopole de Toulouse. Je suis très honorée que vous ayez accepté d'être membre de ce jury.

Au Docteur Dominique Genet et à Aurélien Barrière de la clinique Chénieux, pour leur intérêt pour ce travail et leur participation.

À Madame le Professeur Marie-Anne Lorient de l'Hôpital Européen Georges Pompidou

À Madame le Docteur Marie-Christine Etienne-Grimaldi du Centre Antoine Lacassagne de Nice

Un grand merci à vous de m'avoir permis de participer en partie à la mise en place de l'étude « FUSAFE ». Cette expérience a été très enrichissante et m'a permis de mieux connaître le rôle du biologiste dans le domaine de la pharmacogénétique.

Cela a été un très grand honneur et une très grande satisfaction d'avoir pu travailler en collaboration avec vous.

À l'ensemble du personnel du service d'oncologie du CHU Dupuytren pour m'avoir accueillie durant un semestre, et m'avoir permis de travailler sur ce projet de thèse, en collaboration avec l'ensemble de l'équipe.

À l'ensemble des pharmaciens hospitaliers qui m'ont encadrée durant mon internat de pharmacie et auprès desquels j'ai pu acquérir les compétences et l'assurance nécessaires à mon futur métier de pharmacien hospitalier.

À l'ensemble du personnel de l'unité de préparation des anticancéreux du CHU Dupuytren, pharmaciens et préparateurs.

Merci pour toutes ces journées passées à vos côtés, parfois intenses, parfois plus calmes mais toujours dans la bonne humeur (et dans la fraîcheur !). J'ai beaucoup appris durant ces deux semestres grâce à vous tous.

À Sophie Léobon, pour votre aide précieuse pour les analyses statistiques, jusque dans la dernière minute.

Aux filles de Clermont : de nombreuses années de fac passées ensemble, mais ça y est on en voit enfin le bout!

Aurélie, merci pour ta présence et ton soutien durant nos révisions de l'internat (dimanche compris), pour nos soirées endiablées. Ma première co-interne, ma voisine limougeaude, j'ai l'impression qu'on ne s'est jamais quittées depuis la fac et j'espère que notre amitié durera encore longtemps.

Momo, ces deux semestres en ta compagnie à Bordeaux ont été fabuleux. J'espère qu'on aura encore plein d'occasions de faire la fête, t'as encore plein de dents en stock t'inquiètes pas !

Hélène, merci pour tous ces petits weekends parisiens que tu nous as concoctés pour me faire sortir un peu du Limousin ! Heureusement que tu es là pour nous faire un compte-rendu des potins et prendre des photos souvenirs toutes les cinq minutes pendant nos soirées.

Céline, rien que ton rire est communicatif. Tu nous as sorti tellement de phrases mythiques qu'on pourrait en écrire un roman. Tu es unique et c'est pour ça qu'on t'aime !

À Marion, ma petite Marionnette. Je suis très heureuse de t'avoir rencontrée durant cet internat. Ce petit séjour à Séville en ta compagnie restera gravé dans les mémoires, nos soirées bordelaises également et le pollen aussi, mon gars !

À Émilie, merci pour tes invitations dans tes colocs multiples et variées, pour nos petits déjeuners en tête à tête à l'internat. Ton sourire est communicatif, ta présence est apaisante, je suis très heureuse de t'avoir rencontrée.

À **Julie**, ta douceur et ta gentillesse donnent tout de suite envie d'obtenir ton amitié. Merci pour toutes ces sorties limougeaudes en ta compagnie, je ne connaîtrai jamais la ville aussi bien que toi mais tu as été mon guide !

À **Charlotte**, merci de m'avoir supportée ce semestre! Tu as amenée le soleil avec toi dans l'UPA. Merci pour ton expertise Excel et pour tes courgettes pleines de vitamines qui m'ont redonné des forces dans la dernière ligne droite !

À **Marine**, la grande sportive. Même si tu t'es échappée dans le sud, je n'oublie pas tous ces bons moments passés en ta compagnie à Limoges.

À **Barbara, Bénédicte, Clémentine, Julien, Isabelle, Marie, Kilian, Nathalie, Marie-Amélie, Justine et l'ensemble des internes** que j'ai côtoyé durant mon internat et dont la liste serait bien trop longue à écrire ici.

À **Anne-So**. Toujours là dans les bons (voire très bons !) moments et dans les plus durs. De près, de loin, en tête à tête, sur Skype, notre amitié n'a jamais faibli. Je me demande ce que je ferais sans toi, sans nos fous rires, nos listes et nos projets débiles. Bisous de Docteur Quenelle !

À **Valoche et Thomas**, mes ex-colocs préférés, pour votre amitié fidèle.

À **Martin, Hugo, Amaury, Manon, Bug's, Romain, Jibé, Luc, la team « Badabec »**. Tant de souvenirs vécus avec vous depuis des années. Prem's du groupe à être docteur, faudra qu'on fête ça !

À **Marie et Maxime**. Merci à vous pour tous ces moments partagés, pour votre amitié qui m'est précieuse.

À **Etienne et Sylvie, mes parents**.

Vous m'avez toujours soutenue dans mes projets. Vous pouvez être fiers d'avoir participé à faire celle que je suis aujourd'hui. Je vous aime.

À **Antoine, Louis (Goulasse) et Justin**, mes frérots. Merci d'être des frères aussi géniaux, je suis très fière de vous avoir à mes côtés. Avec une sœur docteur, j'espère avoir de votre part un respect éternel.

À mes grands-parents, Bernard et Micheline, Simone et Robert.

D'où que vous soyez, vous m'avez toujours soutenue et avez toujours été fiers de moi.

À l'ensemble de ma famille, mes oncles, tantes, cousins

Votre présence à mes côtés m'est très précieuse.

Liste des figures

Figure 1 : Structure moléculaire en 2D du 5-fluorouracile	22
Figure 2 : Anabolisme du 5-fluorouracile	24
Figure 3 : Catabolisme du 5-fluorouracile.....	25
Figure 4 : Structure moléculaire en 2D de la capécitabine.....	35
Figure 5 : Biotransformation de la capécitabine en 5-FU	35
Figure 6 : Structure moléculaire en 2D de l'irinotécan	40
Figure 7 : Catabolisme de l'irinotécan	42
Figure 8 : Adaptations de doses de 5-FU selon les recommandations de Boisdrion Celle <i>et al</i>	69
Figure 9 : Calcul d'un score d'activité génétique et adaptations de doses de fluoropyrimidines selon Henricks <i>et al</i>	69
Figure 10 : Recommandations d'adaptations de doses de l'irinotécan selon Etienne-Grimaldi <i>et al</i>	72
Figure 11 : Protocoles utilisés chez les patients traités par fluoropyrimidines	82
Figure 12 : Distribution du rapport UH2/U selon différentes classes chez les patients traités par fluoropyrimidines	83
Figure 13 : Délai d'apparition de la toxicité de grade 1-2 ou de grade 3-4.....	83
Figure 14 : Toxicités et grades retrouvés chez les patients traités par fluoropyrimidines	84
Figure 15 : Toxicités de grade 3-4 retrouvées chez les patients traités par fluoropyrimidines	85
Figure 16 : Pourcentage moyen de réduction de dose du bolus et de la perfusion continue de 5-FU	87
Figure 17 : Première cure réalisée avec une réduction de dose pour le bolus et la perfusion continue de 5-FU	87
Figure 18 : Évolution de la réduction de dose chez les patients traités par bolus ou perfusion continue de 5-FU	88
Figure 19 : Protocoles utilisés chez les patients traités par irinotécan	92
Figure 20 : Toxicités et grades retrouvés chez les patients traités par irinotécan	93
Figure 21 : Évolution de la réduction de dose chez les patients traités par irinotécan.....	95
Figure 22 : Protocoles utilisés chez les patients de l'étude prospective.....	97

Figure 23 : Distribution du rapport UH2/U selon différentes classes chez les patients traités par fluoropyrimidines	98
Figure 24 : Délai d'apparition de la toxicité de grade 3-4 dans l'étude prospective.....	99
Figure 25 : Pourcentage moyen de réduction de la dose du bolus ou de la perfusion continue de 5-FU dans l'étude prospective	101
Figure 26 : Première cure réalisée avec une réduction de dose chez les patients traités par fluoropyrimidines	103
Figure 27 : Évolution de la réduction de dose chez les patients traités par fluoropyrimidines	104

Liste des tableaux

Tableau I : Protocoles de chimiothérapies à base de 5-FU indiqués dans le traitement des cancers colorectaux, pancréatiques, gastriques et oesophagiens.....	29
Tableau II : Protocoles de chimiothérapies à base de 5-FU indiqués dans le traitement des cancers de la sphère ORL	30
Tableau III : Protocoles de chimiothérapies à base de 5-FU indiqués dans le traitement des cancers du canal anal métastatique.....	30
Tableau IV : Protocoles de chimiothérapies à base de 5-FU indiqués dans le traitement des cancers du sein.....	31
Tableau V : Protocoles de chimiothérapies à base de capécitabine indiqués dans le traitement du cancer colorectal	36
Tableau VI : Protocoles de chimiothérapies à base de capécitabine indiqués dans le traitement des cancers gastriques	37
Tableau VII : Protocoles de chimiothérapies à base d'irinotécan indiqués dans le traitement du cancer colorectal et du pancréas	47
Tableau VIII : Caractéristiques de la population traitée par fluoropyrimidines.....	81
Tableau IX : Génotypes <i>DPYD</i> et phénotypes DPD retrouvés chez les patients de l'étude rétrospective.....	82
Tableau X : Pourcentage moyen de réduction de dose et pourcentage de cures réalisées avec une réduction de dose en fonction du traitement	86
Tableau XI : Pourcentage moyen de réduction de dose du 5-FU en fonction de la survenue de toxicités de grade 3-4, du génotype <i>DPYD</i> et du phénotype DPD	89
Tableau XII : Différence entre la réduction moyenne de dose réalisée et la réduction de dose recommandée par le biologiste	90
Tableau XIII : Caractéristiques de la population traitée par irinotécan.....	91
Tableau XIV : Génotypes <i>UGT1A1</i> retrouvés chez les patients de l'étude rétrospective	92
Tableau XV : Pourcentage moyen de réduction de dose de l'irinotécan en fonction de la survenue de toxicités de grade 3-4 et du génotype <i>UGT1A1</i>	95
Tableau XVI : Caractéristiques de la population de l'étude prospective.....	96
Tableau XVII : Génotypes <i>DPYD</i> et phénotypes DPD retrouvés chez les patients de l'étude prospective.....	98
Tableau XVIII : Génotypes <i>UGT1A1</i> retrouvés chez les patients de l'étude prospective	98

Tableau XIX : Pourcentage moyen de réduction de dose et pourcentage de cures réalisées avec une réduction de dose dans l'étude prospective	100
Tableau XX : Pourcentage moyen de réduction de dose en fonction des toxicités de grade 3-4	101
Tableau XXI : Pourcentage moyen de réduction de dose des fluoropyrimidines en fonction du génotype <i>DPYD</i> et du phénotype DPD.....	102
Tableau XXII : Pourcentage moyen de réduction de dose de l'irinotécan en fonction du génotype <i>UGT1A1</i>	103
Tableau XXIII : Pourcentage de différence entre la réduction de dose réalisée et la réduction de dose recommandée par le biologiste dans l'étude prospective	105
Tableau XXIV : Comparaison des génotypes <i>DPYD</i> et <i>UGT1A1</i> entre les populations de l'étude rétrospective et prospective	105
Tableau XXV : Comparaison du phénotype DPD entre les populations de l'étude rétrospective et prospective	106
Tableau XXVI : Comparaison de la survenue de toxicités de grade 1-2 et de grade 3-4 entre les populations de l'étude rétrospective et prospective	106
Tableau XXVII : Comparaison du pourcentage de cures réalisées avec une réduction de dose	107

Sommaire

Remerciements	3
Liste des figures	8
Liste des tableaux	10
Sommaire	12
Liste des annexes	16
Liste des abréviations	17
Introduction	20
I. Le 5-fluorouracile	22
1. Structure	22
2. Mécanisme d'action	22
3. Anabolisme	22
4. Association à l'acide folinique	24
5. Catabolisme	24
6. Pharmacocinétique	26
a. Par voie orale	26
b. Après administration intraveineuse en bolus.....	26
c. Après administration par perfusion continue.....	26
d. Variations de la pharmacocinétique	26
7. Indications	27
8. Posologies	28
a. En monothérapie	28
b. En association	28
c. Protocoles utilisés dans notre étude	28
9. Toxicités	31
10. Mécanismes de résistance	33
II. La capécitabine	35
1. Structure	35
2. Métabolisme	35
3. Indications	36
4. Protocoles utilisés dans notre étude	36
5. Toxicités	37

III. L'irinotécan	40
1. Structure	40
2. Mécanisme d'action	40
3. Catabolisme	40
4. Pharmacocinétique	42
a. Pharmacocinétique de l'irinotécan	42
b. Pharmacocinétique du SN-38	42
c. Pharmacocinétique du SN-38 glucuronidé	43
d. Pharmacocinétique du métabolite APC	43
e. Interconversion entre les formes lactoniques et carboxylates	43
f. Liaison aux protéines plasmatiques	44
g. Absorption	44
h. Distribution	44
i. Élimination	44
j. Pharmacocinétique de l'irinotécan et du SN-38 après administrations répétées	44
k. Influence des paramètres physiopathologiques sur la pharmacocinétique	45
l. Interactions médicamenteuses et pharmacocinétique	45
5. Indications	46
6. Posologies	46
7. Mécanismes de résistance	48
8. Toxicités	48
a. Diarrhée	48
b. Neutropénie	49
c. Autres	49
IV. La pharmacogénétique	50
1. Définition de la pharmacogénétique	50
a. Historique de la pharmacogénétique	50
b. La pharmacogénétique aujourd'hui	51
c. Pharmacogénétique en oncologie	51
2. Pharmacogénétique et fluoropyrimidines	52
a. La dihydropyrimidine déshydrogénase	52
b. Gène codant pour la DPD	53
c. Principales variations d'intérêt du gène <i>DPYD</i>	53

d. Polymorphismes de <i>DPYD</i> et efficacité des fluoropyrimidines	56
e. Polymorphismes de <i>DPYD</i> et toxicités des fluoropyrimidines	56
f. Méthodes de détection de l'activité de la DPD	58
3. Pharmacogénétique et irinotécan	60
a. Enzyme UGT1A1	60
b. Gène <i>UGT1A1</i>	61
c. Principaux polymorphismes.....	61
d. Syndrome de Gilbert et Maladie de Crigler-Najjar	63
e. Polymorphisme génétique et variations pharmacocinétiques	64
f. Polymorphisme génétique et efficacité de l'irinotécan	65
g. Polymorphisme génétique et toxicités de l'irinotécan.....	65
V. En pratique	67
1. Quelles pratiques en France concernant les génotypages de la <i>DPYD</i>, de l'<i>UGT1A1</i> et les phénotypages de la DPD ?	67
2. Adaptations de doses des fluoropyrimidines et de l'irinotécan selon les résultats pharmacogénétiques : quels référentiels ?	67
a. Adaptations de doses des fluoropyrimidines	67
b. Adaptations de doses de l'irinotécan	70
3. Situation au CHU de Limoges	72
a. Pour les fluoropyrimidines.....	72
b. Pour l'irinotécan	73
c. Conditions de prélèvement et rendu des résultats.....	73
VI. Matériels et méthodes.....	75
1. Introduction.....	75
2. Recueil de données	75
a. Données rétrospectives	76
b. Données prospectives	77
3. Méthodes statistiques.....	77
4. Objectifs de l'étude	77
5. Participation à l'étude « FUSAFE ».....	79
VII. Résultats	80
1. Données rétrospectives des génotypages de la <i>DPYD</i> et des phénotypages de la DPD	80

a. Caractéristiques de la population.....	80
b. Génotypes <i>DPYD</i> et phénotypes DPD.....	83
c. Toxicités.....	83
d. Réductions de doses.....	86
2. Données rétrospectives des génotypages de l'<i>UGT1A1</i>	91
a. Caractéristiques de la population.....	91
b. Génotypes <i>UGT1A1</i>	92
c. Toxicités.....	93
d. Réductions de doses.....	94
3. Données prospectives.....	96
a. Caractéristiques de la population.....	96
b. Résultats des tests pharmacogénétiques	97
c. Toxicités.....	99
d. Réductions de doses.....	100
4. Comparaison des données rétrospectives et prospectives.....	105
VIII. Discussion	108
1. Interprétation des résultats.....	108
a. Données rétrospectives des recherches de déficit en DPD	108
b. Données rétrospectives des recherches de déficit en <i>UGT1A1</i>	110
c. Données prospectives.....	111
d. Comparaison des données rétrospectives et prospectives	113
2. Limites de l'étude.....	114
3. Perspectives	115
Conclusion	118
Bibliographie.....	120
Serment de Galien	141

Liste des annexes

Annexe 1 : Définitions des toxicités et des grades selon l’OMS	130
Annexe 2 : Score « Performance Status » selon l’OMS	131
Annexe 3 : Questionnaire de l’étude « FUSAFE » à destination des biologistes	132

Liste des abréviations

5-FU : 5-fluorouracile
5-FdUMP : 5-fluorodésoxyuridine monophosphate
5-FdUDP : 5-fluorodésoxyuridine diphosphate
5-FdUTP : 5-fluorodésoxyuridine triphosphate
5-FUH2 : 5-fluorodihydrouracile
5-FUDP : 5-fluorouridine diphosphate
5-FUdR : 5-fluorodésoxyuridine
5-FUMP : 5-fluorouridine monophosphate
5-FUPA : Acide 5-fluorouréidopropionique
5-FUTP : 5-fluorouridine triphosphate
5'-DFUR : 5'-deoxy-5-fluorouridine
5'-DFCR : 5' déoxy-5-fluorocytidine
ACUP : Adenoma Carcinoma with Unknown Primitive tumor
ADN : Acide DéoxyriboNucléique
ALAT : ALanine AminoTransférase
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
APC : 7-éthyl-10-[4-N-(5-acide aminopentanoïque)-1-pipéridino]-carbonyloxycamptothécine
ARN : Acide RiboNucléique
ARNm : Acide RiboNucléique messenger
ASAT : ASpartate AminoTransférase
AUC : Area Under the Curve ou aire sous la courbe
AVC : Accident Vasculaire Cérébral
CDDP : Cisplatine
CES : Carboxylestérase
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CI 50 : Concentration Inhibitrice 50
CPIC : Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium
CyD : Cytidine Désaminase
DPD : DihydroPyrimidine Déshydrogénase
DPWG : Dutch Pharmacogenetics Working Group
dTMP : Désoxyuridine triphosphate

dTTP : Déoxythimidine triphosphate
dUMP : Désoxyuridine monophosphate
ECG : Electrocardiogramme
EMA : European Medicines Agency
FAD : Flavine Adénine Dinucléotide
FBAL : α -fluoro β -alanine
FDA : Food and Drug Administration
FFCD : Fédération Française de Cancérologie Digestive
FGPS : Folylpolyglutamate Synthétase
GGT : Gamma-GlutamylTransférase
GPCO : Groupe de Pharmacologie Clinique Oncologique
HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance
IMC : Indice de Masse Corporelle
INCa : Institut National du Cancer
IUCT : Institut Universitaire du Cancer de Toulouse
LSN : Limite Supérieure de la Normale
MDR : Multi Drug Resistance
MDRD : Modification of Diet in Renal Disease
MTHF : 5,10-méthyltétrahydrofolate
MRP1 : Multidrug Resistance-associated Protein 1
MRP4 : Multidrug Resistance-associated Protein 4
MSI : Microsatellite Instability
NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NPC : 7-éthyl-10-[4-amino-1-pipéridino]-carbonyloxycamptothécine
NV : Nausées et Vomissements
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OPRT : Orate phosphoribosyl transférase
ORL : Oto-Rhino-Laryngée
PBREM : Phenobarbital Response Enhancer Module
PHRC : Programme Hospitalier de Recherche Clinique
PS : « Performance Status »
RCP : Résumé des Caractéristiques Produits
RE : Réticulum Endoplasmique
RNPGx : Réseau National de Pharmacogénétique

RT : Radiothérapie

RT-PCR : Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction

SN-38 : 7-ethyl-10-hydroxy-camptothécine

SN-38G : SN-38 glucuronidé

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

TA : Thymine Adénine

Tmax : Temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale

TP : Thymidine Phosphorylase

TPMT : Thiopurine-méthyl-transférase

TS : Thymidilate Synthétase

U : Uracile

UDP : Uridine diphosphate

UH2 : Dihydrouracile

UGT : Uridine diphosphate glucuronyltransférase

UGT1A1 : Uridine diphosphate glucuronyltransférase 1A1

UV : Ultra-Violet

VPN : Valeur Prédictive Négative

VPP : Valeur Prédictive Positive

Introduction

Les fluoropyrimidines sont des anticancéreux majeurs utilisés dans le traitement de nombreux cancers. On estime à 100 000, le nombre de nouveaux patients traités par fluoropyrimidines en France chaque année. (1) Ces molécules peuvent être responsables de toxicités parfois sévères, survenant chez des patients atteints de cancers donc déjà fragilisés, engendrant ainsi des surcoûts d'hospitalisation.

La recherche d'un déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) pour lequel il a été démontré un lien de causalité avec l'apparition de toxicités sévères voire mortelles, apparaît désormais indispensable pour prévenir ces toxicités et permettre dans un futur à court terme une individualisation des traitements.

Bien que les tests pharmacogénétiques pourraient améliorer l'efficacité et diminuer les toxicités de ces traitements en permettant des adaptations de doses personnalisées, leur utilisation en pratique courante est encore limitée. De plus, aucun consensus n'existe à l'heure actuelle ni sur les méthodes de recherche de ce déficit, ni sur les adaptations de doses à réaliser selon les résultats de ces tests. (2)

L'irinotécan est une drogue largement utilisée dans le traitement des cancers colorectaux avancés et est responsable principalement de toxicités digestives et hématologiques. La recherche d'un déficit en uridine diphosphate glucuronyltransférase 1A1 (UGT1A1), fréquemment retrouvé dans la population générale, pourrait être effectuée de manière préventive, notamment pour des doses élevées afin de prévenir les toxicités sévères. La question d'une intensification de doses chez les patients ne possédant pas de polymorphisme pour le gène *UGT1A1* est également posée. (3)

Le but de ce travail est d'analyser les toxicités rencontrées et les adaptations de doses effectuées chez les patients traités par fluoropyrimidines et irinotécan au CHU de Limoges et l'Institut Universitaire du Cancer de Toulouse (IUCT) Oncopole, en fonction des génotypes *DPYD* et *UGT1A1* et du phénotype DPD. Nous souhaitons savoir si la réalisation de tests pharmacogénétiques avant le début des traitements anticancéreux, permettait d'améliorer leur tolérance tout en maintenant des doses efficaces.

Pour cela nous avons procédé tout d'abord à une étude rétrospective au CHU de Limoges, réalisée chez les patients pour lesquels une recherche de déficit en DPD ou en UGT1A1 avait été réalisée après l'apparition d'une toxicité de grade 3-4.

Dans un second temps, nous avons réalisé de manière prospective des génotypages de la *DPYD* et de l'*UGT1A1* et des phénotypages de la DPD, chez les patients allant être traités par fluoropyrimidines et irinotécan, à la fois au CHU de Limoges et à l'IUCT Oncopole.

I. Le 5-fluorouracile (5-FU)

1. Structure

Formule moléculaire : $C_4H_3FN_2O_2$

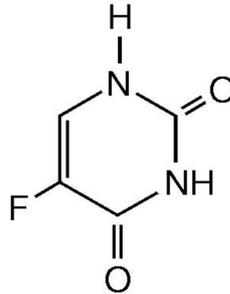


Figure 1 : Structure moléculaire en 2D du 5-fluorouracile

2. Mécanisme d'action

Le 5-fluorouracile est une molécule cytotoxique appartenant à la classe des antimétabolites antiprimidiques, dont l'action s'effectue principalement par l'inhibition de la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN). (4)

C'est un dérivé fluoré de l'uracile, synthétisé en 1957 par Heidelberger et Duschinsky, qui avaient constaté que les cellules tumorales utilisaient plus d'uracile que les cellules saines. (5)

L'uracile joue un double rôle dans les tissus à croissance rapide :

- tout d'abord, il est le précurseur de la thymine, une base nucléique nécessaire à la synthèse de l'ADN, en laquelle il est transformé par la thymidilate synthétase,
- d'autre part, c'est une base nucléique spécifique de l'acide ribonucléique (ARN), permettant ainsi la synthèse protéique.

3. Anabolisme

Pour exercer son activité cytotoxique, le 5-FU doit d'abord subir un métabolisme intracellulaire.

Le 5-FU et l'uracile pénètrent dans la cellule via un système de transport saturable. (6)

Puis, trois voies d'anabolisme permettent d'expliquer la cytotoxicité du 5-FU :

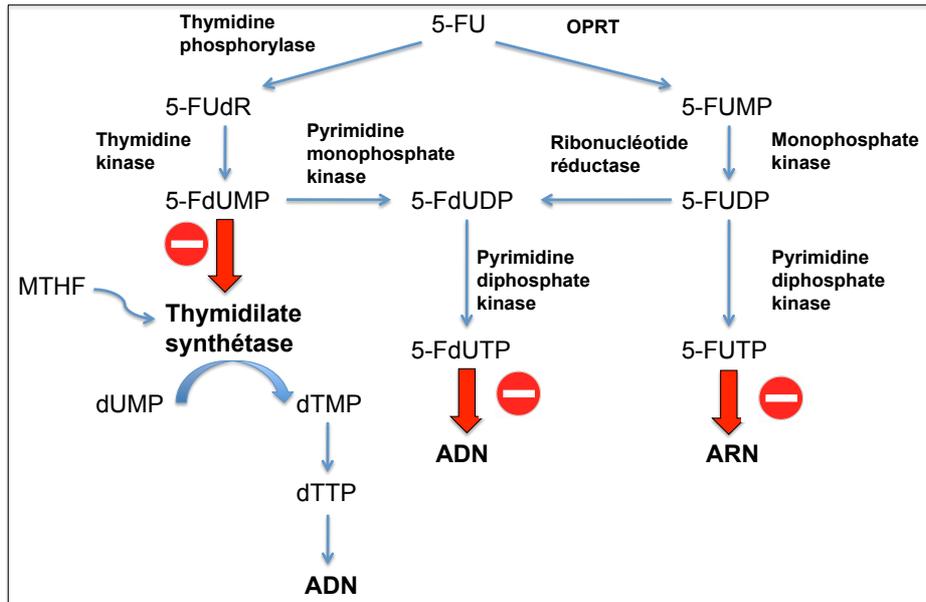
- la principale voie est l'inhibition de la synthèse endogène de thymidine, base pyrimidique essentielle à la synthèse de l'ADN.

Le 5-FU est métabolisé en 5-FdUMP (5-fluorodésoxyuridine monophosphate) en intracellulaire. Le 5-FdUMP inhibe ensuite l'enzyme thymidilate synthétase (TS), responsable de la transformation du dUMP (désoxyuridine monophosphate) en thymidine. Un radical méthyle, le 5,10-MTHF (5,10-méthyltétrahydrofolate), permet de stabiliser le complexe 5-FdUMP – TS.

- Les deux autres voies anaboliques du 5-FU sont moins bien démontrées.

D'une part, après avoir subi une triple phosphorylation pour devenir le 5-FUTP (5-fluorouridine triphosphate), le 5-FU est incorporé dans les ARN de transfert, messagers et ribosomiques, interférant ainsi avec leur maturation, et entraînant des erreurs de lecture du code génétique lors de la synthèse des protéines et enzymes. (7)

D'autre part, il est transformé en 5-FUdR (5-fluorodésoxyuridine) puis phosphorylé trois fois pour aboutir au 5-FdUTP (5-fluorodésoxyuridine triphosphate) qui est inséré dans l'ADN, entraînant sa fragmentation. (8)



5-FUdR : 5-fluorodésoxyuridine
5-FdUMP : 5-fluorodésoxyuridine monophosphate
5-FdUDP : 5-fluorodésoxyuridine diphosphate
5-FdUTP : 5-fluorodésoxyuridine triphosphate
5-FUMP : 5-fluorouridine monophosphate
5-FUDP : 5-fluorouridine diphosphate
5-FUTP : 5-fluorouridine triphosphate
dUMP : désoxyuridine monophosphate
dTMP : désoxythymidine monophosphate
dTTP : désoxythymidine triphosphate
OPRT : orate phosphoribosyl transférase
MTHF : 5,10-méthyltétrahydrofolate

Figure 2 : Anabolisme du 5-fluorouracile

4. Association à l'acide folinique

L'acide folinique est utilisé en association avec le 5-FU, car il permet de moduler son anabolisme et d'augmenter ainsi son efficacité.

En effet, après administration, il est réduit en MTHF qui va stabiliser le complexe FdUMP-TS, permettant ainsi de prolonger l'inhibition de la TS. (9)

5. Catabolisme

Seule une faible fraction du 5-FU est dégradée en métabolites cytotoxiques.

60 à 90% de la molécule sont catabolisés par la **dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD)** en 5-FUH2 (5-fluorodihydrouracile). (10)

La DPD est présente dans de nombreux tissus avec une activité maximale dans les lymphocytes circulants et le foie. L'activité de cette enzyme suit un rythme circadien, à l'origine d'une variation du catabolisme du 5-FU sur 24 heures.

Dans la plupart des tissus, le catabolisme du 5-FU s'arrête au 5-FUH2.

Cependant, au niveau hépatique, le 5-FUH2 est catabolisé en 5-FUPA (acide 5-fluorouréidopropionique) par une deuxième enzyme, la dihydropyrimidase. (11) Puis celui-ci est dégradé en α -fluoro β -alanine (FBAL) et en urée par la β -uréidopropionase. (12)

Le FBAL peut être converti en fluoroacétate, qui est responsable de la toxicité neurologique et cardiaque du 5-FU par inhibition du cycle de Krebs. (13)

Par ailleurs, des métabolites de FBAL conjugués par la N-acyl-CoA transférase ont été isolés dans la bile. (14) Le conjugué FBAL-chénodésoxycholate présente une toxicité hépatique cholestatique et pourrait être en cause dans la toxicité hépatique des fluoropyrimidines. (15)

60 à 80% du 5-FU sont éliminés par voie respiratoire sous forme de CO_2 et seuls environ 1,5% sont éliminés par les urines. (16)

Dans la fraction éliminée par les urines, le 5-FU est présent de 60 à 90 % sous forme de catabolites : 70% sous forme de FBAL, 15% sous forme non métabolisée et 10 % sous forme de 5-FUPA. (5)

Le 5-FUH2, représente seulement moins de 1% des catabolites urinaires, du fait de son instabilité en solution aqueuse. (10)

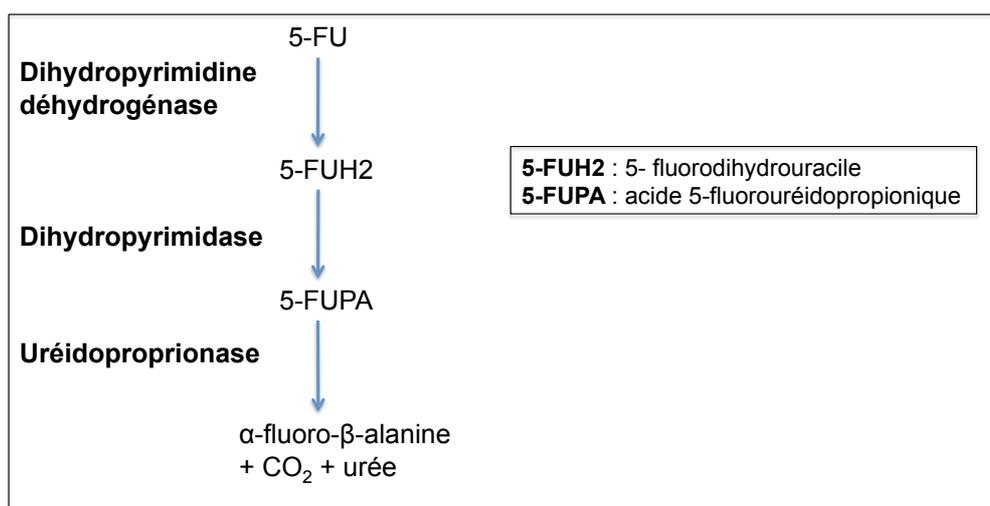


Figure 3 : Catabolisme du 5-fluorouracile

6. Pharmacocinétique

6.a Par voie orale

Le 5-FU a une mauvaise biodisponibilité après administration par voie orale et celle-ci est très variable allant de 0 à 80%. (17) Cette variabilité serait due en partie au catabolisme du 5-FU par la DPD, qui est présente dans la muqueuse intestinale, associé à un effet de premier passage hépatique. Des précurseurs du 5-FU administrés par voie orale, comme la capécitabine ont été développés pour pallier à cette mauvaise biodisponibilité.

6.b Après administration intraveineuse en bolus

Le 5-FU a une diffusion tissulaire très rapide et très sélective dans les tissus tumoraux et les cellules à croissance rapide, comme les cellules de la moelle osseuse et de la muqueuse intestinale. Quatre heures après l'administration, les tissus tumoraux sont six à huit fois plus concentrés en 5-FU que les tissus à croissance normale. Au bout de vingt-quatre heures, ils contiennent toujours la même quantité de produit alors que les tissus à croissance normale n'en contiennent quasiment plus.

De plus, son métabolisme en produits inactifs est très rapide.

Du fait de ces deux phénomènes, le 5-FU a une demi-vie très courte de l'ordre de six minutes.

Après une administration sous forme de bolus intraveineux, son volume de distribution est important (14 à 54 litres) et sa clairance est élevée (0,8 à 1,9 L/min). (4)

Du fait du caractère saturable de son catabolisme, la clairance du 5-FU diminue avec l'augmentation des doses. (10)

6.c Après administration par perfusion continue

Après une administration de 5-FU en perfusion continue, la clairance est plus élevée qu'après une administration par bolus, pouvant atteindre jusqu'à 7 L/min.

Du fait de l'activité circadienne de la DPD, il existe des variations des concentrations plasmatiques de 5-FU sur 24 heures lorsque celui-ci est administré en perfusion continue sur plusieurs jours. (18)

6.d Variations de la pharmacocinétique

- En fonction de l'état nutritionnel

L'effet de la dénutrition sur la pharmacocinétique du 5-FU a été étudié chez l'animal. Il a été observé une diminution de la clairance et une augmentation de la toxicité du 5-FU en cas de

dénutrition protéino-calorique. Ces modifications pourraient être dues à la diminution de l'activité de la DPD hépatique. (19)

Chez l'homme, en revanche, une étude portant sur 187 patients n'a pas retrouvé d'association significative entre la clairance du 5-FU et des perturbations des tests biologiques hépatiques et nutritionnels. (20)

- En fonction du sexe

La clairance du 5-FU est 15% moins élevée chez la femme que chez l'homme. (21)

- En fonction de l'âge

Pour des doses allant jusqu'à 1000 mg/m²/j, les capacités métaboliques des malades de plus de 70 ans sont conservées. (21)

Cependant, les toxicités non-hématologiques du 5-FU tels que les syndromes main-pied sont retrouvées plus fréquemment chez les patients âgés. (22)

- Variabilité inter-individuelle

Il existe une très grande variation inter-individuelle des concentrations plasmatiques de 5-FU obtenues après une administration, que ce soit en bolus (10) ou en perfusion continue (23). Ces variations sont très probablement dues à la variabilité de l'activité de la DPD, influençant le catabolisme du 5-FU.

7. Indications

Le 5-fluorouracile est utilisé dans de nombreux protocoles de chimiothérapies pour le traitement de différentes tumeurs : (16)

- adénocarcinomes digestifs évolués
- cancers colorectaux après résection en situation adjuvante
- carcinomes épidermoïdes des voies aérodigestives supérieures et oesophagiennes
- adénocarcinomes mammaires après traitement locorégional ou lors des rechutes
- adénocarcinomes ovariens

Selon les recommandations du Thésaurus National de Cancérologie Digestive (TNCD), le 5-FU est également utilisé hors autorisation de mise sur le marché (AMM) dans le traitement de certains cancers du pancréas, de l'estomac et du canal anal. (24) (25) (26)

8. Posologies

8.a En monothérapie (16)

En monothérapie, la posologie moyenne est de 400 à 600 mg/m²/j sur des cures de 3 à 6 jours par mois en perfusion intraveineuse d'une heure environ.

8.b En association (16)

En association à d'autres molécules cytotoxiques, le 5-FU est utilisé à des posologies allant de 300 à 600 mg/m²/j par voie intraveineuse, 2 à 5 jours par cycles espacés de 3 à 4 semaines.

Il est également utilisé en perfusion continue à la posologie de 700 à 1000 mg/m² sur 3 à 5 jours consécutifs.

8.c Protocoles utilisés dans notre étude

- En monothérapie

Le 5-FU peut être utilisé en monothérapie selon un schéma dit « De Gramont » (27), utilisé sous le nom de protocole « LV5FU2 simplifié » :

- Acide folinique à 400 mg/m² en perfusion sur 2 heures ;
- Bolus de 5-fluorouracile à 400 mg/m² sur 10 minutes, puis ;
- Perfusion continue de 5-fluorouracile à 2400 mg/m² sur 2 jours consécutifs, administrée grâce à un diffuseur

Ce protocole s'administre tous les 14 jours. Il est indiqué dans le traitement adjuvant et métastatique du cancer colorectal.

- En association

Le 5-FU peut être associé à une perfusion d'oxaliplatine (FOLFOX), d'irinotécan (FOLFIRI) ou des deux molécules (FOLFIRINOX).

Il existe plusieurs protocoles FOLFOX, le plus utilisé est le protocole FOLFOX 4 simplifié (sans J2). D'autres protocoles tels que le FOLFOX 6 et le FOLFOX 7 peuvent être utilisés, composés de doses d'oxaliplatine plus élevées, respectivement à 100 mg/m² et 130 mg/m².

Le protocole FOLFOX 4 simplifié est indiqué dans le traitement adjuvant du cancer colorectal pour les stades II à haut risque et les stades III. Il est également indiqué dans le traitement du cancer colorectal métastatique, des cancers de l'œsophage localement avancés ou métastatiques, parfois en association avec la radiothérapie, et des cancers de l'estomac localement avancés ou métastatiques.

Le protocole FOLFIRI est indiqué dans le traitement du cancer colorectal métastatique, dans les cancers gastriques inopérables ou métastatiques et les adénocarcinomes de l'œsophage métastatiques.

Le protocole FOLFIRINOX est indiqué dans le traitement du cancer colorectal métastatique et du cancer du pancréas exocrine métastatique.

Tableau I : Protocoles de chimiothérapies à base de 5-FU indiqués dans le traitement des cancers colorectaux, pancréatiques, gastriques et œsophagiens (28) (25) (29) (29) (30) (26)

Protocoles	LV5FU2	FOLFOX 4 simplifié	FOLFOX/ Radiothérapie	FOLFIRI	FOLFIRINOX
Irinotécan	-	-	-	180 mg/m ² (J1)	180 mg/m ² (pancréas) ou 150 mg/m ² (côlon) (J1)
Oxaliplatine	-	85 mg/m ² (J1)	85 mg/m ² (J1)	-	85 mg/m ² (J1)
Acide folinique	400 mg/m ² (J1)				
Bolus de 5-FU	400 mg/m ² (J1)				
Perfusion de 5-FU sur 46h	2400 mg/m ²	2400 mg/m ²	1600 mg/m ²	2400 mg/m ²	2400 mg/m ²

Ces protocoles peuvent être utilisés en association avec des thérapies ciblées dans le traitement du cancer colorectal métastatique :

- le bévacizumab (Avastin[®]) en association au FOLFOX ou au FOLFIRI
- le cétuximab (Erbix[®]) ou le panitumumab (Vectibix[®]) en association au FOLFOX ou au FOLFIRI chez les patients ayant un statut RAS sauvage
- l'aflibercept (Zaltrap[®]) en association au FOLFIRI

Le protocole LV5FU2 peut également être utilisé en association avec du cisplatine à 50 mg/m² dans le traitement des adénocarcinomes gastriques localement avancés ou métastatiques tous les 15 jours.

Le FOLFOX est parfois utilisé en hors AMM dans les cancers gastriques surexprimant HER2, en association avec le trastuzumab (Herceptin®).

Plusieurs protocoles contenant du 5-FU sont utilisés dans le traitement des cancers de la sphère oto-rhino-laryngée (ORL). Les principaux protocoles utilisés dans notre étude sont les suivants :

Tableau II : Protocoles de chimiothérapies à base de 5-FU indiqués dans le traitement des cancers de la sphère ORL (31)

Protocoles	TPF	CDDP-5FU
Cisplatine (CDDP)	75 mg/m ² (J1)	100 mg/m ² (J1)
Docétaxel	75 mg/m ² (J1)	-
5-FU	3750 mg/m ² sur 120 h	4000 mg/m ² sur 96 h
Durée du cycle	21 jours	21 jours

Plusieurs protocoles contenant du 5-FU sont utilisés dans le traitement du cancer du canal anal métastatique, avec ou sans association à la radiothérapie (RT). Les protocoles utilisés dans notre étude étaient les suivants :

Tableau III : Protocoles de chimiothérapies à base de 5-FU indiqués dans le traitement des cancers du canal anal métastatique (24)

Protocoles	CDDP-5FU	Mitomycine/5FU	Mitomycine/5FU/RT
Cisplatine	100 mg/m ² (J1)	-	-
Mitomycine	-	12 mg/m ² (J1)	10 mg/m ² (J1)
5-FU	5000 mg/m ² sur 120 h	5000 mg/m ² sur 120 h	4000 mg/m ² sur 96 h
Durée du cycle	28 jours	28 jours	28 jours

Dans le cancer du sein en traitement néo-adjuvant, adjuvant ou métastatique, un des protocoles les plus utilisés est le protocole FEC 100, qui peut également être utilisé avec des doses d'épirubicine à 75 mg/m² et 50 mg/m² dans les protocoles FEC 75 et FEC 50.

Le protocole FUN, en association avec la vinorelbine est indiqué dans le cancer du sein métastatique. Ces protocoles ont été utilisés dans notre étude.

Tableau IV : Protocoles de chimiothérapies à base de 5-FU indiqués dans le traitement des cancers du sein (32) (33)

Protocoles	FEC 100	FUN
Vinorelbine		30 mg/m ² à J1 et J5
Épirubicine	100 mg/m ²	-
Cyclophosphamide	500 mg/m ²	-
5-Fluorouracile	500 mg/m ²	750 mg/m ² en continu sur 120 h
Durée du cycle	21 jours	21 jours

9. Toxicités

- En monothérapie

Bien que le 5-FU soit globalement une molécule de chimiothérapie très bien tolérée, 10 à 30% des patients traités présentent une toxicité sévère de grade 3-4, pouvant être létale chez 0,5 à 1% des patients et on trouve jusqu'à 5% de mortalité liée au traitement chez les patients âgés. (34)

La toxicité du 5-FU est dose-dépendante et touche principalement les tissus à renouvellement rapide tels que l'épithélium digestif et le tissu hématopoïétique.

Au niveau digestif, elle se traduit par l'apparition d'une diarrhée, d'une stomatite, de nausées et vomissements.

Au niveau hématologique, le 5-FU est responsable d'une myélosuppression modérée avec principalement une leucopénie et une thrombopénie, plus rarement une anémie, avec un nadir d'environ 10 jours après l'injection. (5)

Le type d'effets secondaires dépend du mode d'administration du 5-FU : (35)

- l'administration en bolus entraîne essentiellement une toxicité hématologique, en particulier une neutropénie, ainsi que des mucites

Le 5-FU peut également être responsable d'une neurotoxicité rare, principalement après l'administration d'un bolus et à fortes doses, allant du syndrome cérébelleux jusqu'au coma, avec une responsabilité évoquée de son catabolite FBAL. (13)

- l'administration en perfusion continue est marquée par la survenue d'un syndrome érythrodysesthésique palmo-plantaire (aussi appelé syndrome main-pied), de diarrhées et de mucites. (22)

Une cardiotoxicité a également été décrite, survenant principalement en cas de perfusion continue et à fortes doses, avec une responsabilité en partie due à une impureté contenue dans le solvant, le fluoroacétaldéhyde. (36)

Cette toxicité cardiaque se présente sous forme de douleurs précordiales, de modifications transitoires de l'électrocardiogramme (ECG) et exceptionnellement d'infarctus du myocarde, apparaissant le plus souvent lors de la première cure et plus précocement vers le deuxième ou troisième jour. (16)

Le 5-FU peut également entraîner une toxicité cutanée telle qu'une photosensibilisation ou une alopecie modérée de grade 1-2, ainsi qu'une toxicité oculaire avec des hypersécrétions lacrymales. (37)

En cas de surdosage en 5-FU, on observe une majoration des effets secondaires de la molécule, principalement au niveau digestif et hématologique. (16)

Le 5-FU étant principalement métabolisé par le foie, les doses devront être réduites chez les patients atteints d'un trouble grave de la fonction hépatique.

- En association avec l'oxaliplatine

En comparant les toxicités survenues chez des patients traités pour un cancer colorectal avancé soit par LV5FU2 soit par FOLFOX 4, il a été observé davantage de neutropénies de grade 3-4, (41,7% *versus* 5,3%), de diarrhées de grade 3-4 (11,9% *versus* 5,3%) et de neurotoxicité de grade 3 (18,2% *versus* 0%) chez les patients traités avec de l'oxaliplatine. (9)

- En association à l'irinotécan

Une méta-analyse réalisée chez les patients âgés de plus de 75 ans traités pour un cancer colorectal métastatique a montré que le FOLFIRI était significativement plus toxique qu'une monothérapie par 5-FU. Les principales toxicités de grade 3-4 retrouvées chez les patients traités étaient des diarrhées, des nausées, des vomissements et des leucopénies. (38)

L'uridine acétate (VISTOGARD[®]), un analogue pyrimidique, a été autorisé fin 2015 aux États-Unis dans le traitement des toxicités au 5-fluorouracile et à la capécitabine précoces, sévères ou graves. (39)

Il est indiqué à la suite d'un surdosage en fluoropyrimidine, indépendamment de la présence de symptômes, ou chez les patients présentant une toxicité précoce, sévère, ou menaçant le pronostic vital affectant le système nerveux central ou cardiaque, et/ou l'apparition précoce d'effets indésirables particulièrement graves tels qu'une toxicité gastro-intestinale et/ou une neutropénie, dans les 96 heures après l'administration.

10. Mécanismes de résistances au 5-FU (5)

Différents types de résistances au 5-FU ont été démontrés :

- Une modification quantitative de la thymidilate synthétase par amplification génique entraînant l'augmentation des capacités de synthèse de l'ADN, ou une modification qualitative avec diminution de l'affinité de la TS pour le FdUMP.

Les niveaux d'activité et d'expression de la TS intratumorale pourraient même être utilisés pour prédire la réponse au 5-FU dans les cancers colorectaux selon plusieurs études. (40) (41) (42) (43)

Par ailleurs, de la thymidilate peut être récupérée à partir de thymidine par l'action de la thymidine kinase, pouvant ainsi atténuer les effets de la carence en TS.

- Une instabilité du complexe 5-FdUMP-TS due à une déplétion en polyglutamates, ou en folates, ainsi qu'une diminution d'activité de la folylpolyglutamate synthétase (FGPS) responsable de la conversion intracellulaire des folates en polyglutamates.

- Une altération de l'anabolisme du 5-FU, notamment de la conversion du nucléoside en nucléotide ou du 5-FU en 5-FUMP

- Une augmentation de l'activité de la DPD, liée à un polymorphisme génétique important. Salonga *et al* (44) ont notamment démontré un lien entre une faible expression de la DPD dans les cellules tumorales, chez des patients traités pour un cancer colorectal et une bonne réponse anti-tumorale du 5-FU.

- Une amplification des voies de secours indépendantes de la TS pour la synthèse des pyrimidines

- Une mutation de la protéine P53 qui maintient la réalisation du cycle cellulaire malgré les anomalies moléculaires des acides nucléiques induites par le 5-FU

En revanche, le 5-FU ayant une structure très proche de l'uracile, il ne présente pas de résistance pléiotropique de type MDR (MultiDrug Resistance).

II. La capécitabine

1. Structure

Formule moléculaire : $C_{15}H_{22}FN_3O_6$

Nom chimique : N4-pentyloxy-carbonyl-5'-deoxy-5-fluorocytidine

Nom commercial : Xeloda[®]

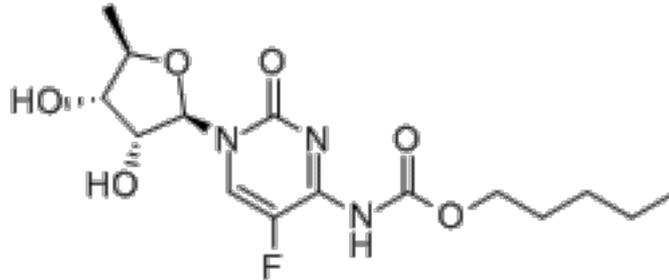


Figure 4 : Structure moléculaire en 2D de la capécitabine

2. Métabolisme

La capécitabine est une fluoropyrimidine, prodrogue orale du 5-fluorouracile. Une fois ingérée, elle traverse la barrière intestinale sans subir de dégradation. Elle est ensuite métabolisée au niveau hépatique en 5'-désoxy-5-fluorocytidine (5'-DFCR) par une carboxylestérase (CES) puis en 5'-désoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) ou doxifluridine par la cytidine désaminase au niveau du foie et des tissus tumoraux. (45) L'activation catalytique du 5'-DFUR en 5FU se déroule ensuite sous l'action de la thymidine-phosphorylase, principalement au niveau tumoral du fait d'une surexpression de cette enzyme à ce niveau ; la capécitabine ayant ainsi une action plus ciblée que le 5-FU. (46) (47)

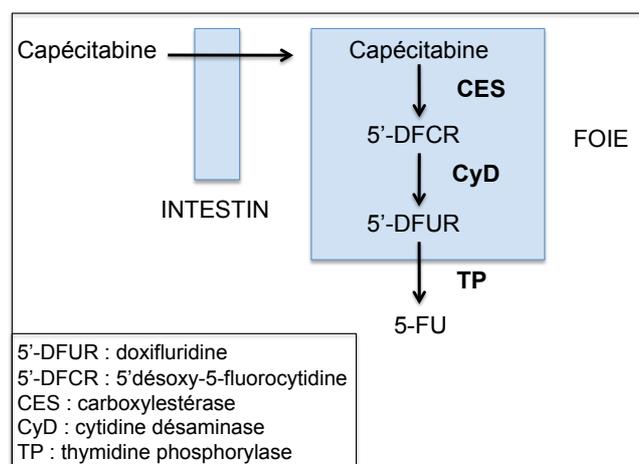


Figure 5 : Biotransformation de la capécitabine en 5-FU

La capécitabine, une fois transformée en 5-FU suivra le même catabolisme, et sera en grande partie dégradée par la DPD.

La capécitabine possède une demi-vie de 45 minutes. Elle est éliminée avec ses métabolites à plus de 95% dans les urines, impliquant une réduction des doses en cas d'insuffisance rénale. (48)

3. Indications (48)

La capécitabine peut être utilisée en monothérapie ou en association à d'autres molécules de chimiothérapie. Elle s'administre par voie orale et est disponible sous forme de comprimés à 500 mg et 150 mg.

Elle possède les indications suivantes :

- en monothérapie dans le traitement du cancer du côlon en adjuvant, le cancer colorectal métastatique ou le cancer du sein localement avancé ou métastatique à la dose de 1250 mg/m² deux fois par jour pendant 14 jours sur 21,
- en première ligne dans le traitement du cancer gastrique avancé, en association à une chimiothérapie à base de sel de platine,
- en association avec le docétaxel dans le traitement du cancer du sein localement avancé ou métastatique, après échec d'une première chimiothérapie à base d'anthracyclines,
- en association à la radiothérapie à la dose de 625 mg/m² deux fois par jour pendant 14 jours sur 21.

4. Protocoles utilisés dans notre étude

Les principaux protocoles utilisant la capécitabine en association dans notre étude sont les suivants :

Tableau V : Protocoles de chimiothérapies à base de capécitabine indiqués dans le traitement du cancer colorectal (28) (29) (26)

Protocoles	XELOX	Avastin[®] - Xeloda[®]
Capécitabine	1000 mg/m ² / 12 h de J2 à J15	1000 mg/m ² / 12 h de J2 à J15
Oxaliplatine	130 mg/m ² (J1)	-
Bevacizumab (Avastin[®])	-	7,5 mg/kg (J1)
Durée du cycle	21 jours	21 jours

Le protocole XELOX est indiqué dans le traitement du cancer colorectal de stade III en situation adjuvante, du cancer colorectal métastatique et du cancer gastrique localement avancé ou métastatique.

La capécitabine peut également être associée à l'irinotécan à 240 mg/m² dans le protocole XELIRI dans le traitement du cancer colorectal métastatique.

Le protocole Avastin®-Xeloda® est indiqué dans le traitement du cancer colorectal métastatique et le cancer du sein métastatique. Une variante existe avec une posologie de capécitabine à 1250 mg/m² toutes les 12 heures de J2 à J15.

Tableau VI : Protocoles de chimiothérapies à base de capécitabine indiqués dans le traitement des cancers gastriques (26)

Protocoles	EOX continu	EOX séquentiel	ECX continu	ECX séquentiel
Capécitabine	625 mg/m ² / 12 h en continu de J1 à J21	1000 mg/m ² / 12 h de J1 à J14	625 mg/m ² / 12 h en continu de J1 à J21	1000 mg/m ² / 12 h de J1 à J14
Oxaliplatine	130 mg/m ² (J1)	130 mg/m ² (J1)	-	-
Epirubicine	50 mg/m ² (J1)	50 mg/m ² (J1)	50 mg/m ² (J1)	50 mg/m ² (J1)
Cisplatine	-	-	60 mg/m ² (J1)	60 mg/m ² (J1)
Durée du cycle	21 jours	21 jours	21 jours	21 jours

Ces protocoles sont indiqués dans le traitement des cancers gastriques localement avancés ou métastatiques.

5. Toxicités (37)

La capécitabine est principalement associée à des toxicités gastro-intestinales et hématologiques ainsi qu'avec la survenue d'un syndrome main-pied.

- Syndrome main-pied

30 à 70% des patients traités par capécitabine seraient touchés par l'apparition d'un syndrome main-pied, en général de grade 2 à 4. Cette toxicité, qui semble être dose-dépendante, est

caractérisée par un érythème douloureux au niveau de la paume des mains et de la plante des pieds, parfois accompagné d'hyperkératose, et souvent précédé de quelques jours par des paresthésies. Le syndrome main-pied est réversible à l'arrêt du traitement en 2 à 3 semaines et sans séquelles.

- Toxicité gastro-intestinale

La capécitabine est responsable d'une toxicité gastro-intestinale très fréquente et dose-limitante avec des nausées et vomissements de grade 1 à 2, une diarrhée de grade 2 à 4 et une stomatite de grade 2.

- Toxicité hématologique

La capécitabine a été associée à des leucopénies et des anémies, généralement peu sévères.

- Autres

La capécitabine peut également provoquer des atteintes oculaires (larmoiements, conjonctivite), des arthralgies, une alopécie réversible, très rare en monothérapie et une toxicité cardiaque peu fréquente.

Lors des études cliniques, la capécitabine a été comparée au protocole FUFOL (Mayo Clinic) composé de 5-FU et d'acide folinique administrés de manière mensuelle pendant 5 jours consécutifs, désormais remplacé par le protocole LV5FU2 comme traitement de référence du cancer colorectal métastatique. Par comparaison au bras capécitabine, la survenue d'une neutropénie de grade 3-4 était significativement plus fréquente chez les patients traités par 5-FU (21% *versus* 2%), ainsi que la survenue d'une stomatite de grade 3-4 (15% *versus* 2%) et d'une diarrhée de grade 3-4 (58% *versus* 48%). Le syndrome main-pied était cependant plus fréquent dans le bras capécitabine (17% de grade 3 *versus* 0,5%). (49)

Dans le traitement des cancers gastriques gastro-oesophagiens et oesophagiens, il a été montré que les toxicités de grade 3 ou 4 induites par la capécitabine étaient : (50)

- en monothérapie : l'apparition d'un syndrome main-pied,
- en association avec le cisplatine : une toxicité hématologique (anémie, leucopénie, neutropénie, thrombopénie), une toxicité digestive (diarrhée, nausées, vomissements) et la survenue d'un syndrome main-pied,

- en association avec l'oxaliplatine (XELOX) : une toxicité hématologique (anémie, leucopénie, neutropénie, thrombopénie), une toxicité digestive (diarrhée, nausées, vomissements), une asthénie ainsi que la survenue d'un syndrome main-pied.

L'apparition d'une toxicité sévère précoce, de grade ≥ 3 (toxicité gastro-intestinale, hématologique, syndrome main-pied et toxicité cardiaque) a été reliée avec la fonction rénale et la surface corporelle ainsi qu'avec l'âge. (51)

Récemment, une étude a montré que les femmes traitées par capécitabine présentaient plus de toxicités dose-limitantes que les hommes, indépendamment de la surface corporelle. (52)

La capécitabine faisant partie de la famille des fluoropyrimidines, elle est dégradée en grande partie par l'enzyme DPD. Les patients présentant un déficit partiel ou total de cette enzyme seront donc sujets à l'apparition de toxicités sévères, durant le traitement. Son Résumé Caractéristiques des Produits (RCP) (48) mentionne d'ailleurs une contre-indication « chez les patients présentant une absence complète d'activité de la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) ». Les patients atteints d'un déficit partiel devront être traités avec précaution.

Des adaptations de doses en fonction des grades de toxicité ainsi que leur fréquence d'apparition sont également proposées dans le RCP. Une fois la dose réduite, celle-ci ne devra pas être réduite ultérieurement.

III. L'irinotécan

1. Structure

Formule moléculaire : $C_{33}H_{38}N_4O_6$

Nom chimique : 7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino]carbonyloxycamptothécine

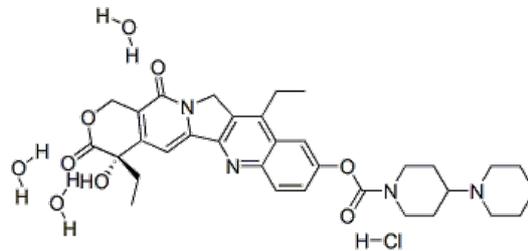


Figure 6 : Structure moléculaire en 2D de l'irinotécan

2. Mécanisme d'action (53)

L'irinotécan est un analogue hémi-synthétique de la camptothécine, alcaloïde à propriétés antitumorales isolé d'un arbre oriental, le *Camptotheca acuminata*.

L'irinotécan, ainsi que son principal métabolite cytotoxique, le SN-38 (7-ethyl-10-hydroxycamptothécine) agissent en inhibant l'enzyme ADN topoisomérase I, induisant des lésions simple-brin de l'ADN qui bloquent la fourche de réplication de l'ADN. La mort cellulaire résulterait des ruptures de brins d'ADN causées par la formation de complexes clivables.

Bien que l'irinotécan ait montré qu'il possédait ses propres propriétés inhibitrices de la croissance cellulaire *in vitro*, il est généralement considéré comme une prodrogue. D'une part car son métabolite SN-38 a une activité cytotoxique 100 à 1000 fois supérieure à la sienne *in vitro*, et d'autre part car les concentrations d'irinotécan nécessaires pour inhiber l'ADN topoisomérase I et provoquer la rupture des brins d'ADN sont 250 fois supérieures à celles du SN-38. (54)

La 4-piperidinopiperidine, métabolite issu de l'hydrolyse de l'irinotécan en SN-38, serait également impliquée dans l'activité cytotoxique de cette drogue.

3. Catabolisme

L'irinotécan est largement métabolisé au niveau hépatique. Trois enzymes hépatiques interviennent dans son métabolisme : une carboxylestérase, l'uridine diphosphate glucuronyltransférase 1A1 (UGT1A1) et le cytochrome P450 3A4.

L'irinotécan possède deux voies principales de métabolisation :

- La principale voie consiste en une hydrolyse de son groupe bipiperidinocarbonylxy par les carboxylestérases CES1 et CES2 pour donner son métabolite actif, le SN-38. Ce métabolite est inactivé dans un second temps par glucuroconjugaison par différentes uridine diphosphate glucuronyltransférase (UGTs) dont la principale impliquée est l'UGT1A1. Les enzymes hépatiques UGT1A6 et UGT1A9 ainsi que l'enzyme extra-hépatique UGT1A7 sont également impliquées dans cette glucuroconjugaison. (55) Le SN-38 glucuronidé (SN-38G), peut ensuite redonner le SN-38 dans la lumière intestinale, après déconjugaison par une β -glucuronidase d'origine bactérienne. (56) La proportion importante de SN-38 au niveau intestinal, explique en partie la diarrhée induite par l'irinotécan.

L'activité de la carboxylestérase ne semble pas être modifiée suite à des administrations répétées d'irinotécan. De plus, le système enzymatique n'est pas saturé à haute dose, en effet l'aire sous la courbe (AUC) du SN-38 augmente de façon proportionnelle à la dose d'irinotécan administrée et le pourcentage de production de métabolites dans le plasma et l'urine reste stable quelque soit la dose.

Le loperamide, utilisé en prévention des diarrhées peut interférer avec l'hydrolyse de l'irinotécan en activant la production du SN-38. Cependant, il est généralement donné au moins 8 heures après l'administration de la molécule cytotoxique, limitant les chances d'interférer sur son hydrolyse. (53)

- La deuxième voie de métabolisation de l'irinotécan correspond à la formation de deux métabolites inactifs par oxydation par le cytochrome P450 3A4 :

- le 7-éthyl-10-[4-N-(5-acide aminopentanoïque)-1-pipéridino]-carbonyloxyamptothécine (APC), dérivé de l'acide aminopentanoïque

- et le 7-éthyl-10-[4-amino-1-pipéridino]-carbonyloxyamptothécine (NPC), dérivé de l'amine primaire

L'APC est un métabolite majeur oxydatif et est inactif. Le NPC, en revanche, peut être hydrolysé par les CES en SN-38.

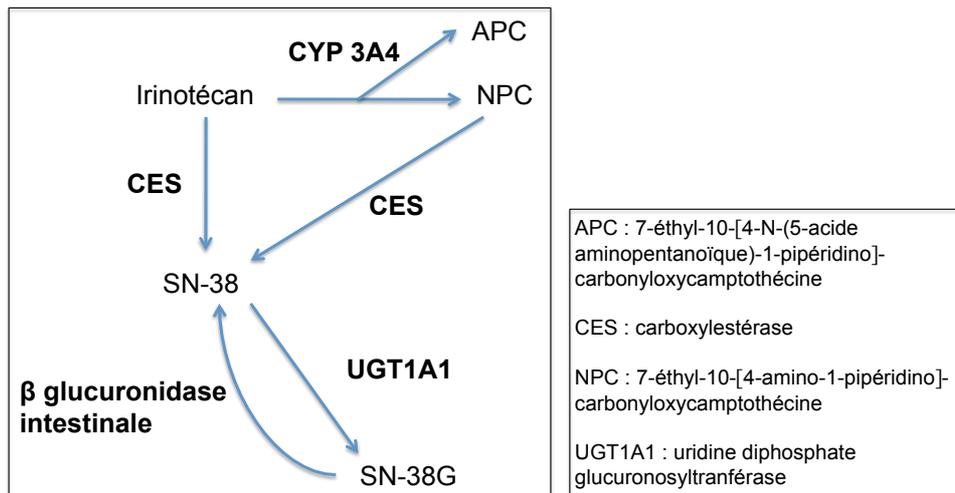


Figure 7 : Catabolisme de l'irinotécan

4. Pharmacocinétique

4.a Pharmacocinétique de l'irinotécan (53)

Après administration de doses d'irinotécan à 100 mg/m^2 (trois fois par jour toutes les trois semaines ou trois fois par semaine toutes les trois semaines) et à 350 mg/m^2 toutes les trois semaines, les concentrations plasmatiques maximales moyennes étaient comprises entre 2 et 10 mg/L , se situant dans les valeurs de concentrations cytotoxiques nécessaires pour tuer des cellules cancéreuses *in vitro*.

Les concentrations rebonds maximales en irinotécan sont en général atteintes après 30 minutes à 1 heure après la fin de l'administration de la solution par voie intraveineuse, suggérant l'existence d'un recyclage entéro-hépatique de la molécule. Après administration d'une courte perfusion de 30 à 90 minutes, les concentrations plasmatiques suivent un modèle à 2 ou 3 compartiments avec une demi-vie moyenne de 5 à 14 heures. La clairance totale étant de 12 à 17 L/h/m^2 , et le volume de distribution de 255 L/m^2 .

Après administration d'une courte perfusion de 30 à 90 minutes à des doses entre 33 et 750 mg/m^2 , l'AUC croît proportionnellement à la dose administrée, suivant une pharmacocinétique linéaire bien qu'il existe une variabilité inter-individuelle importante.

4.b Pharmacocinétique du SN-38 (53)

Bien que les concentrations sanguines du métabolite SN-38 soient environ 100 fois moins élevées que celles de l'irinotécan, elles sont au-dessus des valeurs de concentration inhibitrice 50 (CI 50) des études pré-cliniques.

Chez l'homme, le T_{max} du SN-38 (temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale) est atteint environ une heure après le début de l'administration d'une courte perfusion d'irinotécan de 30 minutes.

La décroissance plasmatique du SN-38 suit celle de l'irinotécan avec une demi-vie terminale de 6 à 22 heures.

Comme pour l'irinotécan, le SN-38 présente des concentrations rebonds une heure après la fin de la perfusion intraveineuse, avec une concentration biliaire élevée en SN-38, indiquant un probable recyclage entéro-hépatique de la molécule.

L'AUC du SN-38 augmente proportionnellement à la dose d'irinotécan administrée, impliquant que de fortes doses d'irinotécan sont plus susceptibles d'obtenir une réponse tumorale, compte-tenu de la forte activité du métabolite.

4.c Pharmacocinétique du SN-38 glucuronidé

Le SN-38 est largement glucuroconjugué en SN-38G et les concentrations plasmatiques de ce métabolite sont plus élevées que celles du SN-38 avec un ratio d'AUC SN-38G/SN-38 de 6,5 pour une dose de 350 mg/m².

Une saturation de la glucuroconjugaison peut apparaître après des administrations hebdomadaires de 175 mg/m².

La pharmacocinétique du SN-38G suit celle du SN-38 et de l'irinotécan avec une décroissance plasmatique similaire.

4.d Pharmacocinétique du métabolite APC

Le métabolite APC de l'irinotécan présente des concentrations plasmatiques élevées avec un pic de concentration environ 2 heures après la fin de la perfusion. Les concentrations d'APC sont en général intermédiaires entre celles de l'irinotécan et celles du SN-38G et peuvent parfois atteindre des concentrations supérieures à celles de la molécule-mère chez certains patients.

4.e Interconversion entre les formes lactoniques et carboxylates

L'irinotécan et le SN-38 existent à la fois sous une forme lactone, prédominante en milieu acide et une forme carboxylate, prédominante en milieu basique. Seule la forme lactone serait active sur la topoisomérase I c'est pourquoi la stabilité de cette forme joue un rôle primordial dans l'efficacité de la molécule et sa toxicité. Au niveau plasmatique, la proportion de forme lactone par rapport à la concentration totale d'irinotécan est élevée (66%) juste après la fin de

la perfusion et diminue progressivement jusqu'à un équilibre de 25 à 30%, 24 heures après. Le SN-38 est à 70 à 80% sous forme lactone après la fin de la perfusion et à 24 heures atteint un équilibre de 50 à 64%.

4.f Liaison aux protéines plasmatiques

In vitro, l'irinotécan est lié aux protéines plasmatiques à 65% alors que le SN-38 est lié à 95%. Les formes lactones de l'irinotécan et du SN-38 sont plus stables en présence de l'albumine sérique humaine.

4.g Absorption

Un essai clinique de phase I a étudié l'administration orale d'irinotécan et a montré que la molécule est bien absorbée par cette voie et possède une activité cytotoxique. Cependant, la biodisponibilité d'une forme orale n'est pas connue, et l'irinotécan est seulement utilisé par voie intraveineuse.

4.h Distribution

Chez l'homme, la distribution hépatique de l'irinotécan et de ses métabolites apparaît importante.

4.i Élimination

Plus de 50% de la dose d'irinotécan administrée par voie intra-veineuse est excrétée sous forme inchangée, principalement par voie biliaire à 33% et à 22% dans les urines.

Les métabolites APC et SN-38G sont les principaux métabolites retrouvés dans la bile et l'urine alors que le SN-38 et le NPC sont peu excrétés. Dans les fèces, le SN-38 et l'APC sont les principaux métabolites retrouvés. Le ratio SN-38/SN-38G est beaucoup plus important dans les fèces qu'au niveau de l'urine et de la bile, probablement à cause de l'hydrolyse du SN-38G par une β -glucuronidase intestinale. (57)

4.j Pharmacocinétique de l'irinotécan et du SN-38 après administrations répétées

La pharmacocinétique de l'irinotécan et du SN-38 n'est pas influencée par une exposition antérieure à une drogue apparentée. De plus, le ratio AUC SN-38/AUC irinotécan n'est pas modifié par le nombre de cures, signifiant qu'il n'existe ni induction enzymatique ni modification de la distribution en fonction du nombre de cures. En parallèle, l'excrétion urinaire de chacune des molécules n'est pas modifiée par le nombre de cures.

4.k Influence des paramètres physiopathologiques sur la pharmacocinétique

Aucune association n'a été retrouvée entre la clairance de l'irinotécan ou le ratio AUC SN-38/AUC irinotécan et différents facteurs physiologiques tels que l'âge, le poids, la taille, la surface corporelle, le groupe ethnique, le sexe, et la clairance rénale.

Certains paramètres de la fonction hépatique ont été associés négativement avec la clairance de l'irinotécan tels que la bilirubinémie et le taux de gamma-glutamyltransférase (GGT). Une association significative positive a été retrouvée entre le ratio AUC SN-38/AUC irinotécan et plusieurs fonctions hépatiques tels que la bilirubinémie et les taux d'aspartate aminotransférase (ASAT) et d'alanine aminotransférase (ALAT).

Ces constatations peuvent aboutir à des adaptations de doses en fonction des marqueurs hépatiques.

L'augmentation du ratio AUC SN-38/AUC irinotécan quand certains marqueurs hépatiques sont élevés pourrait être due à une plus faible clairance de l'irinotécan, conduisant à une disponibilité de la molécule plus longue pour le système enzymatique impliqué dans la formation du SN-38.

4.l Interactions médicamenteuses et pharmacocinétique

Les études pré-cliniques ont montré des interactions entre l'irinotécan et plusieurs médicaments :

- l'acide valproïque qui inhibe presque complètement la glucuroconjugaison du SN-38, provoquant une augmentation de l'AUC de ce dernier alors que la pharmacocinétique de l'irinotécan reste inchangée
- le phénobarbital qui induit l'activité de l'UGT, entraîne une augmentation de l'AUC du SN-38G ainsi qu'une réduction des AUC de l'irinotécan et du SN-38
- la ciclosporine qui diminue la clairance de l'irinotécan en diminuant l'excrétion biliaire chez les rats

In vitro, plusieurs interactions ont été testées avec des molécules pouvant interférer avec la glucuroconjugaison du SN-38. Seules la morphine, le paracétamol et le lopéramide étaient responsables d'une faible inhibition de l'activité enzymatique.

Dans les études cliniques, l'interaction entre l'irinotécan et le 5-fluorouracile est encore controversée. Dans l'étude de Sasaki *et al* (58), il a été montré que le 5-FU augmenterait l'AUC de l'irinotécan et diminuerait celle du SN-38. Cependant d'autres études, comme celle de Saltz *et al* (59), n'ont pas montré d'interaction entre les deux molécules.

L'association avec le docétaxel ou avec l'oxaliplatine ne changerait pas la pharmacocinétique de l'irinotécan ni celle du SN-38.

5. Indications (60)

L'irinotécan est indiqué dans le traitement des patients présentant un cancer colorectal avancé:

- en association avec le 5-fluorouracile et l'acide folinique chez les patients n'ayant pas reçu de chimiothérapie antérieure pour le stade avancé de leur maladie,
- en monothérapie après échec d'un traitement ayant comporté du 5-FU.

Il est également utilisé dans le traitement du cancer colorectal métastatique :

- en association avec le cétuximab ou le panitumumab, chez les patients ayant un statut RAS sauvage
- en association avec le bévacizumab et le 5-FU en traitement de première ligne.
- en association avec l'aflibercept et le 5-FU chez les patients résistants ou ayant progressé sous oxaliplatine

Dans des études cliniques de phase II, l'irinotécan a également démontré une activité anti-tumorale dans d'autres cancers tels que les cancers du poumon, du col de l'utérus, du pancréas, de l'estomac et du sein. (53)

6. Posologies

Les doses d'irinotécan recommandées durant les études cliniques de phase II, étaient de 240 à 350 mg/m² toutes les 3 semaines, de 100 à 150 mg/m²/semaine toutes les 3 à 5 semaines et 30 mg/m² en perfusion continue de 5 jours toutes les 3 semaines. (53)

Dans le RCP de l'irinotécan, les posologies recommandées sont :

- 350 mg/m² toutes les 3 semaines par voie intraveineuse en monothérapie
- 180 mg/m² toutes les 2 semaines par voie intraveineuse, suivie d'une perfusion d'acide folinique et de 5-FU selon le protocole FOLFIRI

Au CHU de Limoges, l'irinotécan est notamment utilisé dans les protocoles suivants :

Tableau VII : Protocoles de chimiothérapies à base d'irinotécan indiqués dans le traitement du cancer colorectal et du pancréas (28) (25)

Protocoles	FOLFIRI	FOLFIRINOX
Irinotécan	180 mg/m ² (J1)	180 mg/m ² (pancréas) ou 150 mg/m ² (côlon) (J1)
Oxaliplatine	-	85 mg/m ² (J1)
Acide folinique	400 mg/m ² (J1)	400 mg/m ² (J1)
Bolus de 5-FU	400 mg/m ² (J1)	400 mg/m ² (J1)
Perfusion de 5-FU sur 46h	2400 mg/m ²	2400 mg/m ²

À l'IUCT Oncopole, le protocole FOLFIRINOX est utilisé avec une dose de 180 mg/m² d'irinotécan à la fois dans le traitement des cancers du côlon et du pancréas.

Le protocole FOLFIRI peut être utilisé dans le traitement du cancer colorectal métastatique en association avec le bévacizumab, le cétuximab, le panitumumab ou l'aflibercept.

Par ailleurs, il existe une variante de ce protocole, appelé FOLFIRI fort, où la dose d'irinotécan est de 240 mg/m².

L'irinotécan est également utilisé, plus rarement, dans le protocole XELIRI à 240 mg/m² en association avec la capécitabine ou dans le protocole TOMIRI à 350 mg/m² en association avec le raltitrexed.

En hors AMM, l'irinotécan peut être utilisé de façon hebdomadaire à la dose de 100 mg/m² J1-J8-J15 tous les 28 jours dans le traitement du cancer du poumon neuroendocrine à grandes cellules. (61)

Les ajustements posologiques recommandés dans le RCP, en cas de toxicités sont une réduction de dose de 15 à 20% de l'irinotécan et/ou du 5-FU en cas de survenue d'une toxicité non hématologique de grade 3 ou 4, de neutropénie de grade 4, de neutropénie fébrile (neutropénie grade 3-4 et fièvre grade 2-4), de thrombopénie et leucopénie (grade 4).

En cas d'administration d'irinotécan en monothérapie, des recommandations de doses en fonction de la bilirubinémie sont décrites dans le RCP de la molécule :

- pour les patients ayant une bilirubinémie $\leq 1,5$ fois la limite supérieure de la normale (LSN), la dose recommandée est de 350 mg/m².

- pour les patients ayant une bilirubinémie comprise entre 1,5 et 3 fois la LSN, la dose recommandée est de 200 mg/m².

- les patients ayant une bilirubinémie > 3 fois la LSN ne doivent pas être traités avec l'irinotécan.

7. Mécanismes de résistance

L'existence d'une résistance aux camptothécines serait due à une activité diminuée de l'ADN topoisomérase I et/ou à la mutation de cette enzyme, induisant une diminution de la fixation des molécules cytotoxiques. (53)

Des mécanismes de résistance via l'expression des protéines MRP4 (Multidrug Resistance-associated Protein 4) et MRP1 (Multidrug Resistance-associated Protein 1) ont également été mis en évidence avec l'irinotécan. (62)

8. Toxicités (60)

Les principales toxicités rencontrées après administration d'irinotécan sont une diarrhée retardée et une atteinte médullaire avec une neutropénie de grade 3 à 4, non-cumulative, réversible et dose-dépendante, une leucopénie, une anémie ou une thrombopénie sévères.

8.a Diarrhée (37)

- Diarrhée précoce

L'irinotécan peut entraîner une diarrhée précoce, survenant en cours de perfusion ou immédiatement après. Sa survenue est indépendante de la dose ou du schéma d'administration.

Cet effet serait dû à une inhibition de l'acétylcholinestérase et la diarrhée est parfois associée à un syndrome cholinergique avec des symptômes tels que des crampes gastro-intestinales, une hypersalivation, une hypersudation, des larmoiements et des troubles de l'accommodation. La diarrhée précoce est prévenue par une injection systématique de sulfate d'atropine, en général à 0,25 mg, par voie sous-cutanée.

- Diarrhée retardée

La diarrhée retardée est une toxicité dose-limitante, de type sécrétoire, qui survient plus de 24 heures après l'administration d'irinotécan. En monothérapie, elle apparaît en moyenne 5 jours

après la perfusion et dure environ 5 jours. Elle est observée chez 20% des patients traités en monothérapie qui ont suivi les recommandations de prise en charge de la diarrhée et chez 13,1% de ceux traités en association.

Le risque de diarrhée est augmenté chez les patients ayant reçu une radiothérapie abdomino-pelvienne, chez les patients ayant une hyperleucocytose initiale, chez ceux ayant un indice de performance status (PS) de grade ≥ 2 selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) et chez les femmes.

La diarrhée retardée est totalement imprévisible, elle dépend de la dose et du schéma d'administration mais n'est pas cumulative.

Dans 10% des cas, elle peut nécessiter une réhydratation et une hospitalisation. Elle peut également mettre en jeu le pronostic vital si elle est mal traitée, en particulier en cas de neutropénie concomitante. Dans ce cas, si la neutropénie est sévère, une antibiothérapie prophylactique à large spectre doit être prescrite.

Le traitement anti-diarrhéique actuellement recommandé consiste en de fortes doses de loperamide (4 mg lors de la première prise puis 2 mg toutes les 2 heures), poursuivies pendant 12 heures après la dernière selle liquide.

Il n'a pas été démontré de réel lien entre l'AUC de l'irinotécan et l'intensité des effets indésirables gastro-intestinaux. Dans certaines études, la sévérité de la diarrhée est corrélée avec le pic plasmatique et l'AUC du SN-38. (63) (64) Cette toxicité digestive serait donc principalement due au SN-38 et à son exposition intra-luminale. Il a également été retrouvé une association entre de faibles taux de glucuroconjugaison du SN-38 et l'apparition de la diarrhée. (65)

8.b Neutropénie

Il a été établi une association significative entre la diminution du taux de globules blancs et de polynucléaires neutrophiles et l'augmentation de l'AUC de l'irinotécan et du SN-38. (53)

8.c Autres

L'irinotécan peut également entraîner l'apparition de nausées, de vomissements et d'une alopecie fréquente de grade 2 à 3.

IV. La pharmacogénétique

1. Définition de la pharmacogénétique (66)

La pharmacogénétique est l'étude des variations de la séquence d'ADN sur la réponse aux médicaments. Bien que les deux termes soient fréquemment employés indistinctement, elle se distingue de la pharmacogénomique, qui étudie les variations des effets toxiques ou thérapeutiques des médicaments sur la base d'une analyse des informations contenues dans le génome entier d'un individu. (67)

La pharmacogénétique consiste en la recherche de polymorphismes génétiques germinaux qui sont pour la plupart des changements ponctuels de nucléotides, les SNPs (*single nucleotide polymorphisms*), qui expliquent environ 10% de la variabilité génétique du génome humain.

De façon théorique, on considère que l'existence d'un polymorphisme pour un gène est démontrée si le nombre de sujets présentant l'allèle variant représente plus de 1% de la population. (2) A défaut, le caractère *de novo* de la variation ne peut être exclu et celle-ci sera qualifiée de mutation plutôt que de polymorphisme.

Les SNPs peuvent avoir un rôle majeur dans la variabilité individuelle de réponse aux traitements médicamenteux et dans la survenue de toxicités, notamment des thérapies anticancéreuses.

1.a Historique de la pharmacogénétique

La pharmacogénétique s'est majoritairement orientée vers l'étude de protéines intervenant dans l'absorption, le métabolisme et l'élimination de certains médicaments. En déterminant les concentrations sanguines ou urinaires des molécules mères et/ou de leurs métabolites, des sujets « métaboliseurs lents » (ou à l'inverse « ultra-rapides ») ont pu être identifiés, notamment les acétyleurs lents de l'isoniazide, un antituberculeux, en 1953.

Dans les années 1960 et 1970, les principales enzymes impliquées dans le métabolisme des médicaments sont progressivement découvertes et les voies métaboliques déficientes des patients « métaboliseurs lents » sont caractérisées.

Mais c'est véritablement la caractérisation du génome humain dans les années 2000, et les progrès de la biologie moléculaire, qui vont permettre le développement de la pharmacogénétique avec l'analyse génétique des variants alléliques. Elle comprend actuellement trois grands domaines de recherche : les enzymes du métabolisme, les transporteurs transmembranaires et les récepteurs ou « sites-cibles » des médicaments.

1.b La pharmacogénétique aujourd'hui

Une grande partie des tests utilisés actuellement en pharmacogénétique visent à détecter des SNPs. Bien que la majorité des SNPs n'entraîne pas de modification fonctionnelle des protéines correspondantes, pour certains d'entre eux, l'activité ou le niveau d'expression de la protéine peuvent être altérés, pouvant modifier le catabolisme de la molécule. Les médicaments anticancéreux et leurs nombreuses toxicités représentent donc des candidats de choix pour des études pharmacogénétiques.

Cependant, au regard des nombreuses publications réalisées sur les conséquences cliniques des polymorphismes génétiques, ces tests sont encore peu développés en pratique régulière en médecine.

La limite actuelle des tests pharmacogénétiques réside dans leurs valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) qui sont rarement proches de 100%.

On considère en effet, qu'un test ayant des VPN et VPP inférieures à 80% ne pourra qu'estimer un risque tout en étant peu informatif au niveau individuel.

Or, à l'heure actuelle, la plupart des tests ne répondent pas à ces critères et permettent difficilement de conclure formellement à l'existence d'un risque pour le patient en cas de traitement et *a contrario* à l'absence totale de risque en l'absence de la variation génétique recherchée.

Cependant, on s'oriente progressivement vers une individualisation des traitements, notamment en cancérologie, grâce aux tests pharmacogénétiques considérant que l'information apportée par ces tests peut permettre l'évitement de toxicités sévères voire de décès toxique. L'agence américaine du médicament, la Food and Drug Administration (FDA), a d'ailleurs émis dès 2003 des recommandations dans plusieurs RCP sur la nécessité d'effectuer des tests pharmacogénétiques avant l'instauration d'un traitement susceptible d'entraîner des effets indésirables graves voire mortels, notamment concernant les variations du gène *UGT1A1* et l'irinotécan. (68)

1.c Pharmacogénétique en oncologie

Le plus ancien test de pharmacogénétique utilisé en oncologie est celui du génotypage de la TPMT (thiopurine-méthyl-transférase) impliquée dans l'élimination de l'azathioprine (Imurel[®]), utilisée dans la prévention du rejet de greffe et dans certaines maladies immunitaires comme le lupus érythémateux ou la maladie de Crohn, et de la 6-mercaptopurine (Purinethol[®]) utilisée dans le traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques et myéloblastiques, et des leucémies myéloïdes chroniques.

Le RCP de la capécitabine (69) mentionne désormais une contre-indication concernant « les patients présentant une absence complète d'activité de la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) », impliquant la réalisation d'une analyse pharmacogénétique de cette enzyme préalablement à l'initiation du traitement. Le risque de toxicités survenant chez des patients déficitaires en DPD est simplement évoqué dans celui du 5-FU. (70)

L'objectif des tests pharmacogénétiques en cancérologie serait, dans un futur à court terme, de pouvoir minimiser les toxicités des traitements tout en obtenant une efficacité thérapeutique maximale, en individualisant la posologie en fonction des résultats génétiques ou phénotypiques obtenus.

2. Pharmacogénétique et fluoropyrimidines

2.a La dihydropyrimidine déshydrogénase

La dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) est une enzyme ubiquitaire responsable à la fois du catabolisme des pyrimidines naturelles (l'uracile et la thymidine) et fluorées dont le 5-fluorouracile et la capécitabine.

Que ce soit dans une population de sujets sains ou malades, il a été démontré que la distribution de l'activité de la DPD était gaussienne. (71) (72)

Son activité suit un rythme circadien avec un pic d'activité à 1 heure et un minimum à 13 heures entraînant une variation des concentrations plasmatiques de 5-FU avec un maximum à 11 heures et un minimum à 23 heures. (73)

Son activité est soumise à une grande variabilité inter-individuelle, due à un polymorphisme génétique, ses valeurs d'activité leucocytaire pouvant être six fois plus élevées d'un patient à un autre.

La fréquence des déficits en DPD dans la population générale serait de 3 à 5% pour les déficits partiels et de 0,2% pour les déficits complets. Ces déficits sont principalement liés à un polymorphisme d'origine génétique, correspondant à des mutations ponctuelles ou SNPs au niveau du gène codant pour la DPD. (2)

Le mode de transmission de ce déficit enzymatique d'origine génétique a été étudié dans différentes familles comprenant un membre ayant présenté une toxicité au 5-FU et pour lequel un déficit en DPD avait été prouvé. Il a été démontré que la transmission de cette activité déficitaire était autosomique codominante. (74)

De plus, il existe des différences d'activité enzymatique de la DPD en fonction des groupes ethniques. Par exemple, les Sud-Coréens possèdent une activité enzymatique de la DPD plus

importante que la moyenne alors que les femmes afro-américaines ont une plus forte proportion de déficit enzymatique. (75)

2.b Gène codant pour la DPD

Le gène *DPYD*, codant pour la DPD est un gène de grande taille, situé sur le chromosome 1 en position 22 (1p22). Il est composé de 4399 nucléotides dans 23 exons codants, rassemblant 950 kilobases. (76)

Plus d'une trentaine de SNPs ont été retrouvés au sein du gène *DPYD*. Certains sont silencieux, mais une quinzaine, situés à des endroits indispensables à l'activité de la DPD ont un retentissement plus ou moins important sur l'activité enzymatique, selon que l'individu sera homozygote ou hétérozygote pour le SNP en question. (2)

2.c Principales variations d'intérêt du gène *DPYD*

- SNPs principaux

Trois voire quatre SNPs consensuels font actuellement l'objet de recommandations de génotypage au niveau national et international dans la recherche des déficits en DPD :

- La variation du gène *DPYD* la plus connue et la plus étudiée est celle caractérisant l'allèle ***DPYD*2A (IVS14+1G>A, c.1905+1G>A, ou rs3918290)***. Il s'agit de la substitution d'une guanine par une adénine, au niveau du site d'épissage près de l'exon 14. Ce SNP est à l'origine d'un défaut d'épissage, entraînant la délétion complète de l'exon 14 lors de l'épissage de l'ARN pré-messager, touchant la région codant pour le site de fixation de l'enzyme à son substrat, aboutissant ainsi à la synthèse d'une protéine DPD à activité diminuée. (76)

Les sujets homozygotes pour cet allèle auront une activité DPD nulle alors que les sujets hétérozygotes auront une activité réduite de plus de 50% par rapport à un sujet non muté, suffisamment pour induire une toxicité sévère au 5-FU.

Cet allèle est considéré comme relativement rare par rapport aux autres variations connues du gène *DPYD*. Sa fréquence varie entre 0,1% et 1% dans les populations caucasiennes et afro-américaines. Deux études ont montré que l'allèle *DPYD*2A* était présent chez 43 et 52% des patients déficitaires et chez 24 à 28% des patients ayant présenté une toxicité de grade 3 ou 4 aux fluoropyrimidines. (77)

- **c.2846A>T ou rs67376798 ou D949V** : il s'agit d'une substitution « faux-sens » qui remplace en position 949 de la DPD, l'acide aspartique par une valine. Elle entraîne un changement structural de la DPD interférant avec la liaison au cofacteur ou le transport d'électron. La fréquence de cet allèle varie de 0,1% chez les afro-américains à 1,1% dans la population caucasienne. *In vitro*, il a été montré que l'expression homozygote de cet allèle correspond à une activité enzymatique diminuée d'environ 50% par rapport à l'activité normale de la DPD, suggérant ainsi que les individus hétérozygotes auraient une activité enzymatique réduite d'environ 25%. (77)

- **DPYD*13 ou c. 1679T>G ou rs55886062 ou I560S**: il s'agit d'une substitution « faux sens » située au niveau de l'exon 13 qui remplace l'isoleucine par une sérine en position 560 sur la protéine. La fréquence de cet allèle varie de 0,07% à 0,1% chez les individus caucasiens. Les conséquences fonctionnelles de ce SNP ne sont pas complètement connues, mais celui-ci entraînerait la déstabilisation d'une région sensible de la protéine, au niveau du site de fixation au FAD (flavine adénine dinucléotide). *In vitro*, l'expression homozygote de cet allèle a pour conséquence une diminution d'activité de la DPD de 75% par rapport à l'activité normale. (77)

- **c.1236G>A/HapB3 ou rs56038477 ou E412E** : ce SNP a d'abord été décrit par Seck *et al* (78) comme une mutation silencieuse. Ce polymorphisme survenant au niveau de l'exon 11 est un variant synonyme qui est un lien entre différentes variations, caractérisant l'haplotype « B3 ». La fréquence des patients hétérozygotes dans la population caucasienne varie entre 2,6% et 6,3%. Bien que deux études aient étudié les activités enzymatiques chez des patients mutés, les données sont encore limitées. Les patients homozygotes auraient une activité enzymatique résiduelle de 30% par rapport à l'activité normale. (77)

- Autres SNPs

De nombreux autres SNPs ont été décrits dans la littérature, principalement après avoir été retrouvés chez des patients ayant présenté des toxicités sévères aux fluoropyrimidines, parmi lesquels :

- **DPYD*4 ou c.1601G>A ou rs1801158 ou S534N** : cet allèle a été retrouvé chez des patients ayant présenté une toxicité au 5-FU et pourrait être responsable d'une diminution d'activité de la DPD. (79)

- **c.464T>A** : ce SNP non sens est localisé au niveau de l'exon 5 et correspond au remplacement d'une leucine par un codon stop en position 155, entraînant la transcription d'une protéine tronquée. Il a été retrouvé chez une femme décédée suite à une toxicité multi-viscérale induite par le 5-FU. (80)

- **c.496A>G ou rs2297595 ou M166V** : ce SNP est localisé sur l'exon 6 du gène *DPYD*, ayant pour conséquence le remplacement d'une méthionine par une valine. Il est relativement fréquent dans la population européenne (de 7 à 12%). Il a été relié soit à une activité de la DPD normale dans les cellules périphériques sanguines, soit à une diminution d'activité, soit à une activité enzymatique augmentée dans les études *in vitro*. (81)

- **c.1129-5923C>G ou rs75017182** : ce SNP est estimé à moins de 0,01% de la population mais peut être retrouvé jusque chez 2% des Européens. Il affecte l'épissage du pré-ARNm de la DPD en créant un site donneur d'épissage cryptique, entraînant l'insertion d'un fragment de 44 paires de bases de l'ARNm mature de la DPD, un nouveau cadre de lecture et un codon stop prématuré sur l'exon 11. (81)

La mutation c.1129-5923C>G serait situé en *cis* avec la mutation c.1236G>A.

- **c. 1896T>C ou rs17376848 ou F632F** : ce SNP a été associé à une plus forte survenue de neutropénies chez les patients traités par 5-FU (82)

- ***DPYD**5 ou c.1627A>G ou rs1801159 ou I543V** : ce SNP correspond à la substitution d'une thymine par une cytosine entraînant le remplacement d'un acide aminé isoleucine par une valine en position 543. Il a été associé à l'apparition de neutropénies chez les patients traités par fluoropyrimidines. (82)

- ***DPYD**9A ou c.85T>C ou rs1801265 ou C29R**

Gentile *et al* (83) ont montré que les variants rs1801160, rs1801265 et rs2297595 étaient associés à une diminution de la dégradation du 5-fluorouracile, comparable avec celle causée par l'allèle *DPYD**2A.

Les fréquences des mutations rs1801158, rs1801159, rs2297595, rs17376848, et rs1801160 étaient respectivement de 4,3%, 17,1%, 10,5%, 1,9% et 6,5% dans l'étude de Toffoli *et al* (84). Cependant, aucune association significative entre ces SNPs et une toxicité de grade 3 au 5-FU n'a été retrouvée.

Les SNPs c.496A>G, c.1129-5923C>G et c.1896T>C pourraient avoir un rôle dans les toxicités aux fluoropyrimidines mais leur utilisation en pratique clinique reste encore à être validée. (81)

Les variations génotypiques de *DPYD* sont en général asymptomatiques, et seront seulement responsables de toxicités chez les patients traités par des fluoropyrimidines. (75)

2.d Polymorphismes de *DPYD* et efficacité des fluoropyrimidines

Dong *et al* (85) ont étudié la relation entre les taux d'activité de la DPD et les concentrations plasmatiques de 5-FU, l'efficacité et les toxicités chez des patients traités pour un cancer colorectal. Il a été montré une variabilité importante entre ces différents patients. L'activité de la DPD était corrélée négativement avec les concentrations plasmatiques de 5-FU et la toxicité, alors qu'elles l'étaient positivement avec la réponse tumorale et l'efficacité du traitement.

2.e Polymorphismes de *DPYD* et toxicités des fluoropyrimidines

Les 3 variants principalement associés à une toxicité aux fluoropyrimidines sont les allèles *DPYD**2A, *13 et le SNP rs67376798. Toffoli *et al* (84) ont encore montré récemment la validité et la spécificité de rechercher ces trois variants en prévention de l'apparition de toxicités avant un traitement par fluoropyrimidines.

Les sujets homozygotes pour les allèles *DPYD**2A, *13 ou pour le SNP rs67376798 ont une activité enzymatique DPD très diminuée ou ont un déficit complet en DPD et requièrent le choix d'une molécule alternative au 5-fluorouracile. (86) (87) (88)

Les valeurs prédictives positives et négatives des génotypes *DPYD**2A, *13 et rs67376798 pour prédire une toxicité sévère au 5-FU sont respectivement de 62% et 95%, la sensibilité est de 31%. (76)

Lee *et al* (89), ont récemment trouvé une plus faible sensibilité à 5% et une VPN à 68% des génotypes *DPYD**2A, *13 et rs67376798 pour les toxicités de grade ≥ 3 , probablement due à l'association à des protocoles de chimiothérapie, avec accumulation des effets indésirables.

Ils ont étudié les toxicités survenues chez 2886 patients traités par chimiothérapie adjuvante par FOLFOX ou FOLFIRI, avec ou sans cétuximab, et il a été établi une association significative entre l'allèle *DPYD**2A et le rs673766798 et une toxicité au 5-FU de grade supérieur à 3. L'association restait significative après ajustement en fonction de l'âge, du

sexe, du grade, du stade tumoral, du score « Performance Status » (PS), de la localisation tumorale, du statut RAS, du phénotype MSI (microsatellite instability), du changement de dose ou de traitement.

L'allèle *DPYD*2A* était associé à une augmentation de toxicités de type nausées, vomissements et neutropénies. Le rs67376798 quant à lui, était associé à des effets indésirables de type déshydratation, diarrhée, neutropénie, leucopénie et thrombopénie.

Le variant allélique c.496A>G a été fortement associé à une toxicité de grade 3-4 chez les patients traités par 5-FU atteints de cancers gastriques, œsophagiens ou de cancers du sein, mais pas chez ceux atteints de cancers colorectaux.

Cependant, différentes études ont montré qu'il n'y avait aucune association entre c.496A>G et la toxicité aux fluoropyrimidines. Par ailleurs, il a même été démontré que ce variant allélique protégerait de la toxicité hématologique du 5-FU, en particulier des neutropénies chez les femmes. (81)

Meulendijks *et al*(34) ont montré en 2016 une association significative entre les variants alléliques c.1679T>G et c.1236G>A/HapB3 et la susceptibilité à la toxicité du 5-FU. L'association était en revanche négative pour le variant c.1601G>A.

Récemment, Lee *et al* (90) n'ont cependant pas retrouvé d'association entre le SNP c.1129-5923C>G /hapB3 et la survenue d'effets indésirables sévères au 5-FU.

Des données conflictuelles existent sur l'association de c.1236G>A et une toxicité sévère au 5-FU. Mais il a par ailleurs été montré qu'un haplotype contenant trois polymorphismes introniques (c.483+18G>A, c.959-51T>G, c.680+139G>A) et le SNP c.1236G>A étaient associés à une toxicité sévère au 5-FU. Cependant, l'augmentation de la susceptibilité à la toxicité des fluoropyrimidines des patients porteurs de cet haplotype serait due à la présence de l'allèle c.1129-5923C>G.

Il a également été montré que le SNP 1896T>C augmentait les concentrations plasmatiques du 5-FU et la toxicité neutropénique chez les patients concernés. (81)

Del Re *et al* (91) ont publié le cas d'un patient ayant présenté une toxicité sévère à la capécitabine ayant entraîné le décès. Celui-ci était hétérozygote pour un allèle rare, le c.257C>T sur l'exon 4, le c.496A>G sur l'exon 6, l'allèle c.1850C>T sur l'exon 14 et le c.2194G>A sur l'exon 18. La cause de sa mort a été attribuée à la présence du SNP c.1850C>T combiné au c.257C>T étant donné le rôle marginal des SNP c.496A>G et c.2194G>A dans les déficits en DPD. Cet exemple reflète bien la complexité à expliquer un déficit en DPD étant donné la multiplicité des polymorphismes du gène *DPYD*.

Li Q *et al* (92) ont effectué une méta-analyse pour étudier l'association entre les polymorphismes génétiques du gène *DPYD* et l'apparition de toxicités au 5-FU chez les patients atteints de cancers colorectaux. Ils ont retrouvé une association significative entre les variations IVS14+1G>A, c.464T>A et c.2194G>A et l'incidence de toxicités médullaires. Les variants IVS14+1G>A, c.496A>G et c.2194G>A étaient associées à l'apparition de toxicités digestives.

Chez des patients atteints de cancers coliques et traités par le protocole FOLFOX, il a été démontré une association significative entre le variant *DPYD*6* et l'apparition de toxicités de grade 3 ou plus liées au 5-fluorouracile, notamment les toxicités hématologiques. (93)

Le SNP c.85T>C caractéristique de l'allèle *DPYD*9A* a été associé à l'apparition d'un syndrome main-pied, et chez un patient à la survenue d'effets secondaires oculaires après traitement par 5-FU. (94)

Joerger *et al* (95) ont montré une association entre les variants c.85T>C, c.1896T>C et c.2846A>T et la survenue de diarrhées et de syndromes main-pied après un traitement par capécitabine.

Bien que la toxicité après administration de 5-FU, lors d'un déficit enzymatique en DPD soit principalement d'ordre digestif et hématologique, elle peut également se présenter sous forme de neurotoxicité avec apparition plus ou moins lentes de symptômes neurologiques tels que des crises d'épilepsies, des altérations de la conscience dues à des ataxies cérébelleuses et des encéphalopathies. (75)

2.f Méthodes de détection de l'activité de la DPD (2)

La forte prescription des fluoropyrimidines dans la pratique courante a nécessité la mise en place de méthodes de dépistage du déficit enzymatique en DPD.

Plusieurs approches ont été développées :

1/ Le dosage radio-enzymatique, évaluant directement l'activité enzymatique. Cette technique consiste en l'incubation de cellules mononuclées du patient avec du 5-FU radiomarqué puis une mesure par chromatographie liquide haute performance (HPLC) du catabolite formé. Cette technique est très lourde à mettre en place en pratique courante. Bien qu'ayant été la méthode de référence durant des années, elle est aujourd'hui peu utilisée, notamment dans le diagnostic pré-thérapeutique.

2/ L'approche pharmacogénomique, qui consiste à mesurer l'expression de l'ARN messenger (ARNm) du gène *DPYD* en intra-leucocytaire par RT-PCR (Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction) quantitative. Cette technique est moins lourde que la première et peut être réalisée avec un débit plus important. Cependant, bien que Johnson *et al* (96) et Seck *et al* (78) aient retrouvé une association entre l'activité enzymatique de la DPD et l'expression de l'ARNm de *DPYD*, cette association n'a pas été retrouvée par Boisdrion-Celle *et al* (97).

3/ L'approche la plus courante, est une approche pharmacologique qui consiste à mesurer à la fois les concentrations de dihydrouracile (UH2) et d'uracile (U) dans le plasma par chromatographie liquide couplée à une détection ultraviolet (UV) ou par spectrométrie de masse et d'évaluer l'activité *in vivo* de l'enzyme par le ratio UH2/U. Ce rapport a été corrélé de façon significative avec le risque et la gravité des toxicités des fluoropyrimidines, apparaissant dès la première cure. (97) Le dosage de l'uracile seul plasmatique est également utilisé. (51)

4/ L'approche pharmacogénétique basée sur la détection de SNPs du gène *DPYD* ou de son promoteur. Les variants *DPYD*2A*, *DPYD*13*, c.2846A>T et dans certains centres c.1236G>A/HapB3 sont ceux qui ont été les plus associés à des toxicités sévères post-traitement par fluoropyrimidines. La recherche des génotypes *DPYD*2A* et c.2846A>T a notamment été associée à une spécificité d'environ 98% et une valeur prédictive négative d'environ 96,5%. (98) (98)

D'autres voies ont été explorées, notamment avec un des métabolites du 5-FU, le FBAL qui peut être utilisé pour prédire l'activité de la DPD *in vivo*, en cas de faibles concentrations de FBAL. (75)

En 2004, Mattison *et al* (99) ont développé un nouveau test non-invasif pouvant être utilisé pour détecter un déficit enzymatique en DPD. Du 2-¹³C-uracile était administré par voie orale, puis les taux de ¹³CO₂ et ¹²CO₂ étaient détectés dans l'air expiré, par spectroscopie infrarouge. Il a été montré qu'un taux diminué de ¹³CO₂ dans l'air expiré était associé à un déficit partiel ou complet en DPD.

A l'heure actuelle, aucune de ces quatre méthodes de détection ne possède à la fois une bonne sensibilité et une bonne spécificité, ne pouvant être à elle seule une méthode de détection utilisée en pratique courante. L'approche phénotypique par la mesure du rapport UH2/U a une

grande sensibilité (82,4%) mais une plus faible spécificité (78,4%) alors que l'approche génotypique possède une excellente spécificité, supérieure à 90%, mais une sensibilité médiocre.

La meilleure approche consiste donc en une détection couplée avec à la fois un génotypage en recherchant de manière systématique au moins 3 des variations génétiques les plus fréquemment rencontrées dans la survenue de toxicités (*DPYD*2A* ou *IVS14+1G>A*, *DPYD*13* ou *1679T>G*, *2846A>T*) et un phénotypage avec le dosage du rapport UH_2/U , donnant une vision globale du déficit enzymatique. La combinaison de ces deux méthodes permet d'obtenir une sensibilité de 83% et une spécificité de 82%. Boisdrion-Celle *et al* ont montré que cette méthode combinée permettait de détecter 98% des toxicités de grade 3-4 et 100% des cas mortels. (97)

Le rendu de ces résultats sous 8 à 10 jours peut permettre un dosage en pré-thérapeutique avec adaptations de doses dès la première cure de chimiothérapie en tenant compte à la fois du génotype et du phénotype de l'individu.

3. Pharmacogénétique et irinotécan

3.a Enzyme UGT1A1 (100)

Les UGTs (uridine diphosphate glucuronosyltransférases) appartiennent à une superfamille d'enzymes responsables de la glucuroconjugaison de substrats endogènes ou exogènes. Elles sont fixées à la membrane du réticulum endoplasmique (RE), avec leur partie catalytique dans la lumière du RE.

La superfamille est divisée en familles et sous-familles en fonction de l'identité des séquences protéiques.

La bilirubine non conjuguée, produit de dégradation de l'hémoglobine, provient de la réduction de la biliverdine par la biliverdine réductase à NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate). Pour être éliminée par le système hépato-biliaire, la bilirubine doit être conjuguée à de l'acide glucuronique. Cette action est réalisée au niveau hépatique par une enzyme UGT, qui va catalyser le transfert de groupements glucuronosides sur la bilirubine aux dépens d'une molécule d'acide uridine diphosphate (UDP) glucuronique. La bilirubine ainsi conjuguée est hydrosoluble et peut alors être éliminée via les canaux biliaires.

3.b Gène *UGT1A1*

Le complexe de gènes UGT1 présent sur le chromosome 2 en position 37 (2q37) comprend 4 exons distaux communs et jusqu'à 13 exons variables. (101)

Le gène *UGT1A1* a été caractérisé en 1992 par Ritter *et al* (102). Il est localisé au niveau de l'extrémité terminale du bras long du chromosome 2 dans l'espèce humaine (en 2q37.1). Il appartient à un complexe moléculaire codant plusieurs protéines à activité uridine diphosphate glucuronosyltransférase. Le cluster UGT1A contient quatre pseudo-gènes et neuf gènes qui codent, après épissage alternatif, neuf protéines à activité glucuronosyltransférase dont la principale est l'UGT1A1.

Tous ces gènes ont une partie commune correspondant aux quatre derniers exons codant la partie C-terminale de chaque protéine et se différencient par leur premier exon spécifique, codant la partie N-terminale de chaque protéine.

Le gène *UGT1A1* codant pour l'enzyme UGT1A1, responsable au niveau endogène de l'activité bilirubine glucuronosyltransférase, s'étend sur environ 13,1 kb, possède 5 exons et contient 2357 nucléotides dont 1602 pour la partie codante.

Il est contrôlé par un promoteur spécifique situé en amont de l'exon 1, la TATA box, qui possède, sous sa forme non mutée, six répétitions du dinucléotide thymine-adénine (TA).

Plusieurs variations du gène *UGT1A1* sont responsables d'une diminution de l'activité de l'enzyme UGT1A1 voire d'une absence d'activité, pouvant conduire à une hyperbilirubinémie non conjuguée.

3.c Principaux polymorphismes

- *UGT1A1**28

La variation principale du gène *UGT1A1* correspond à l'allèle *UGT1A1**28 (rs8175347 ou (TA)₇TAA) qui correspond à l'insertion d'un doublet de bases TA supplémentaire, passant de six à sept doublets, dans la région promotrice TATA box du gène *UGT1A1*.

Selon le nombre de répétitions TA dans les deux allèles, le polymorphisme génétique *UGT1A1**28 sera classé comme tel : TA₆/TA₆ (absence du variant), TA₆/TA₇ (hétérozygote), TA₇/TA₇ (présence homozygote du variant).

Les génotypes TA₆/TA₇ et TA₇/TA₇ entraînent une diminution de l'activité enzymatique de l'UGT1A1 de l'ordre de 30%, d'où une diminution de la glucuroconjugaison du SN-38, responsable d'une toxicité augmentée à l'irinotécan. (103)

La fréquence du génotype TA₇/TA₇ est relativement importante dans la population africaine (12 à 27%) et caucasienne (5 à 15%) mais plus faible dans la population asiatique et celle du Pacifique (1,2 à 5%). (103)

Dans la population caucasienne, on estime que 30-50% des individus ne possèdent pas cette variation alors qu'il existe 8 à 20% d'homozygotes TA₇/TA₇ et 40 à 50% d'hétérozygotes. (104)

- Autres polymorphismes de la TATA Box

Les allèles *UGT1A1**36 et *UGT1A1**37 correspondent respectivement à une répétition de 5 doublets TA ((TA)₅TAA) et de 8 doublets TA ((TA)₈TAA). Ces allèles sont principalement retrouvés dans la population africaine avec des fréquences de 3 à 10% pour l'*UGT1A1**36 et de 2 à 7% pour l'*UGT1A1**37. L'augmentation du nombre de doublets de la TATA Box est associée à la fois à une réduction du taux de transcription et à une diminution de l'activité enzymatique. (104)

- Polymorphismes intéressant la région promotrice du gène

Il existe également des polymorphismes du gène *UGT1A1* au niveau de la région promotrice, la PBREM (phenobarbital response enhancer module) : (104)

- *UGT1A1**60 ou rs4124874 ou c.3279T>G

Ce SNP est retrouvé chez 23 à 39% des Caucasiens, 15% des Africains et 17% des Asiatiques.

- *UGT1A1**93 ou rs10929302 ou c.3156G>A

30 % des Caucasiens et des Africains possèdent ce variant ainsi que 10 à 13% des Asiatiques.

Ces deux allèles sont retrouvés chez 10% de la population caucasienne à l'état homozygote.

- Polymorphismes au niveau de la région codante (exon 1)

L'allèle *UGT1A1**6 (rs4148323 ou G71R) (105) correspond au changement de nucléotides 211G>A au niveau de l'exon 1 entraînant le remplacement d'une glycine par une arginine en position 71 de la protéine. Il est retrouvé plus fréquemment chez les patients d'Asie de l'Est que dans la population blanche américaine. L'activité enzymatique de l'*UGT1A1* est diminuée de 30% chez les patients homozygotes pour cet allèle. (104)

L'allèle *UGT1A1**27 (rs35350960) correspond au changement de nucléotides 686 C>A au niveau de l'exon 1, avec une modification de l'enzyme *UGT1A1* de type P229Q, entraînant une diminution quasi-complète de l'activité de glucuroconjugaison. Comme pour l'allèle *UGT1A1**6, environ 3% de la population asiatique est homozygote pour cet allèle. (104)

Il existe une grande variabilité génétique pour le gène *UGT1A1*. À l'heure actuelle, plus de 100 SNPs ont été décrits, avec une diminution de l'activité de l'enzyme UGT1A1 variable, associés à un syndrome héréditaire d'hyperbilirubinémie non conjuguée.

3.d Syndrome de Gilbert et Maladie de Crigler-Najjar (106)

Le syndrome de Gilbert et la maladie de Crigler-Najjar sont des pathologies héréditaires de la conjugaison de la bilirubine affectant le gène *UGT1A1*.

Le syndrome de Gilbert ou cholémie familiale est un syndrome génétique bénin, à transmission autosomique récessive impliquant le gène *UGT1A1*. Certaines études de population ont cependant montré une transmission autosomique dominante évoquant plutôt un syndrome polygénique.

Chez les patients atteints de ce syndrome dans les populations caucasiennes et africaines, il a été retrouvé principalement des anomalies moléculaires au niveau du promoteur du gène *UGT1A1*, avec insertion de dinucléotides TA au niveau de la TATA box, correspondant à l'allèle *UGT1A1*28*. Dans la population asiatique, les variations retrouvées étaient plutôt des anomalies au niveau de la séquence codante telles que l'*UGT1A1*6*. (107)

Les patients atteints d'un syndrome de Gilbert présentent une hyperbilirubinémie, généralement modérée, principalement non conjuguée et sont asymptomatiques la plupart du temps.

Ce syndrome est relativement fréquent dans la population caucasienne, retrouvé chez 3 à 10% des individus. (104)

La maladie de Crigler-Najjar ou ictère familial congénital est une maladie très rare dont la fréquence est estimée à 1/1 000 000, et qui correspond à un déficit en UGT permanent d'origine génétique.

Elle existe sous deux formes :

- la maladie de type I qui correspond à un déficit enzymatique complet en UGT1A1.

Cette maladie très grave, se manifeste dès les premières heures de vie par un ictère cutanéomuqueux à bilirubine non conjuguée et nécessite une prise en charge en urgence. L'activité enzymatique ne peut être induite par le phénobarbital.

Les patients atteints sont porteurs de mutations rares touchant notamment les exons 1 à 5 ou d'haplotypes responsables d'une diminution totale de l'activité enzymatique de l'UGT1A1. (104)

- la maladie de type II ou syndrome d'Arias qui correspond à un déficit enzymatique partiel. La plupart des patients atteints sont porteurs de mutations homozygotes faux sens ou de mutations hétérozygotes réduisant l'activité de l'UGT1A1 d'environ 10%. Contrairement à la maladie de type I, l'activité enzymatique pourra être induite par une prise quotidienne de phénobarbital à vie chez les patients atteints. (107)

Les patients atteints d'un syndrome de Gilbert ou de la maladie de Crigler-Najjar seront susceptibles de présenter des toxicités parfois graves lors d'un traitement par irinotécan.

3.e Polymorphisme génétique et variations pharmacocinétiques

De nombreuses études ont évalué l'influence d'un polymorphisme génétique de l'UGT chez les patients traités par irinotécan, notamment sur les variations pharmacocinétiques de la molécule.

Iyer *et al* (108) ont étudié 20 patients atteints de tumeurs solides traités par de l'irinotécan à 300 mg/m² toutes les 3 semaines et ont montré une association significative entre le génotype et le rapport de concentrations [SN-38G]/[SN-38] avec un ratio de glucuroconjugaison du SN-38 plus élevé d'abord chez les patients *1/*1 (9,38) puis chez les patients *1/*28 (4,04) puis chez les patients *28/*28 (2,41) (p=0,001). Les concentrations circulantes de SN-38, reflétées par l'AUC du métabolite étaient significativement plus élevées chez les patients hétérozygotes *28 (AUC SN-38 : 288,61 ng.h⁻¹.mL⁻¹) et homozygotes *28 (AUC SN-38 : 531,37 ng.h⁻¹.mL⁻¹) que chez les patients ayant un génotype sauvage (AUC SN-38 : 205,13 ng.h⁻¹.mL⁻¹) (p=0,001).

Sai *et al* (109) en 2004 ont étudié 88 patients japonais atteints de différents cancers et traités par de l'irinotécan entre 60 et 150 mg/m², parfois en association avec d'autres molécules. Les génotypes *UGT1A1**6 et *28 étaient associés à une diminution du rapport d'AUC SN-38G/SN-38.

Paoluzzi *et al* (110) ont démontré la même chose dans une population de 94 individus caucasiens atteints de tumeurs solides traités par une dose moyenne d'irinotécan de 600 mg.

3.f Polymorphisme génétique et efficacité de l'irinotécan

Bien que quelques études, telles que celles menées par Toffoli *et al* (111) et Cecchin *et al* (112) aient montré que les patients hétérozygotes *28/*28 avaient un meilleur taux de réponse et une meilleure survie sans progression que les sujets *1/*1, peu d'études ont montré une

telle association. Une méta-analyse réalisée par Dias *et al* (113) n'a pas démontré d'association entre la présence de l'allèle *UGT1A1*28* et le taux de réponse.

3.g Polymorphisme génétique et toxicités de l'irinotécan

Différentes études ont cherché une association entre le génotype *UGT1A1* et l'apparition d'une toxicité sévère à l'irinotécan.

Ando *et al* (105) ont réalisé une étude rétrospective chez 26 patients japonais ayant présenté des toxicités sévères de type leucopénie et/ou diarrhée et ont montré une association significative entre l'allèle *UGT1A1*28* et l'apparition de toxicités.

Iyer *et al* (108) ont étudié 20 patients atteints de tumeurs solides. Sur 3 patients ayant présenté des toxicités sévères, un possédait le génotype *UGT1A1*1/*28* et les 2 autres le génotype *UGT1A1*28/*28*.

Innocenti *et al* (114), en 2004, ont observé 66 patients atteints de cancer : 6 ont présenté une neutropénie de grade 4, 3 étaient hétérozygotes pour l'*UGT1A1*28* et les 3 autres étaient homozygotes pour le même allèle.

Deux études contradictoires, Rouits *et al* (115) en 2004 et Marcuello *et al* (116) en 2004 ont montré respectivement que chez les patients atteints d'un cancer colorectal, l'allèle *UGT1A1*28* était associé à une neutropénie sévère mais pas à une diarrhée, et que le même allèle était associé à l'apparition d'une diarrhée de grade 3 à 4 mais pas à celle d'une neutropénie.

Enfin, Carlini *et al* (55), en 2005, ont réalisé une étude chez des personnes atteintes de cancer colorectal et ne retrouvent pas de lien entre les génotypes *UGT1A1* et l'apparition de diarrhée alors que les génotypes *UGT1A7* et *UGT1A9* étaient associés à une toxicité digestive importante et à une meilleure réponse tumorale.

Sunakawa *et al* (117) en 2011 n'ont montré aucune différence significative d'efficacité ou de toxicité chez les patients traités par FOLFIRI selon les génotypes *UGT1A1*1/*1* et *UGT1A1*1/*6* ou *UGT1A1*1/*28*.

Plusieurs méta-analyses ont étudié le risque de toxicité chez les patients **28/*28* en fonction de la dose d'irinotécan : faible dose (< 150 mg/m²), dose intermédiaire (150-250 mg/m²) ou forte dose (> 250 mg/m²).

Hoskins *et al* (118) ont montré sur une population de 821 patients une hématotoxicité sévère significativement plus importante chez les patients **28/*28* pour les fortes doses et les doses intermédiaires mais pas pour les faibles doses.

Hu *et al* (119) ont étudié une population de 1998 patients et ont démontré une augmentation significative du risque d'apparition de neutropénies de grade 3-4 chez les patients *28/*28. Le risque était plus important pour les fortes doses que pour les doses intermédiaires ou faibles. Enfin, Liu *et al* (120) ont réalisé une méta-analyse sur 2328 patients atteints de cancer colorectal qui confirme une fréquence significativement plus importante de neutropénies de grade 3-4 chez les patients *28/*28 en comparaison des patients *1/*28 ou *1/*1, indépendamment de la dose. Une augmentation du risque de diarrhée de grade 3-4 était également observée chez les patients *28/*28 par rapport aux patients *1/*1 pour les doses intermédiaires et élevées.

V. En pratique

1. Quelles pratiques en France concernant les génotypages de la *DPYD*, de l'*UGT1A1* et les phénotypages de la DPD?

En 2014 en France, selon l'Agence de Biomédecine (121), 53 laboratoires ont pratiqué une activité de pharmacogénétique et 16 663 individus ont bénéficié d'un examen de pharmacogénétique soit un total de 19 596 analyses.

Plus de 3300 recherches de déficit en DPD et plus de 1700 génotypages d'*UGT1A1* ont été réalisés, tous deux en diminution par rapport aux deux années précédentes.

Le coût d'un génotypage par patient s'élève à 110 euros, celui d'un phénotypage par dosage plasmatique du rapport UH2/U s'élève à 40 euros. Le rendu des résultats se fait entre 4 et 15 jours selon les centres. (1)

À l'heure actuelle, il n'existe pas de consensus national ou international ni sur la stratégie optimale du dépistage du déficit en DPD (phénotypage et/ou génotypage, nature du phénotypage, suivi thérapeutique pharmacologique) ni sur les adaptations de doses à réaliser en cas de déficit partiel.

Un programme de recherche national «FUSAFE» financé par l'Institut National du Cancer (INCa) (Programme Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC) 2014) et coordonné par le Groupe de Pharmacie Clinique Oncologique (GPCO)-Unicancer et le Réseau National de Pharmacogénétique (RNPGx), lancé en 2015 est actuellement en cours. Il a pour but d'une part de faire un état des lieux des pratiques des laboratoires en France concernant le dépistage des déficits en DPD et d'autre part de réaliser des méta-analyses afin de mieux définir les performances des différentes stratégies actuelles de dépistage du déficit en DPD.

Pour cela, deux questionnaires ont été élaborés, un premier à destination des médecins oncologues et un second réservé aux biologistes.

Ce projet a pour objectif final d'élaborer des propositions permettant un dépistage pré-thérapeutique des déficits en DPD afin de sécuriser la prescription de fluoropyrimidines.

2. Adaptations de doses des fluoropyrimidines et de l'irinotécan selon les résultats pharmacogénétiques : quels référentiels ?

2.a Adaptations de doses des fluoropyrimidines

Le DPWG (Dutch Pharmacogenetics Working Group) (122) a publié en 2011 des recommandations d'adaptations de doses des fluoropyrimidines en fonction du génotype *DPYD*.

- Pour les patients ayant un déficit total (porteur de 2 allèles ou SNPs inactifs (*2A, *3, *7, *8, *10, *11, *12, *13, 496A>G, IVS10-15T>C, 1156G>T, 1845G>T) ou de 2 allèles pour lesquels l'activité enzymatique est diminuée (*9B, *10) ou d'un allèle inactif et d'un allèle à activité enzymatique diminuée) : le choix d'une autre molécule de chimiothérapie que les fluoropyrimidines était recommandé.
- Pour les patients ayant un déficit partiel sur le gène *DPYD* (patients possédant un allèle actif (*1, *4, *5, *6, *9A) et un inactif ou un allèle à activité enzymatique diminué) : une réduction de dose initiale de 50% de 5-FU ou de capécitabine était recommandée avec une adaptation des doses suivantes en fonction de la tolérance et de l'efficacité, ou le choix d'une thérapie alternative.

Un autre consortium international, le CPIC (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium) (76) a également établi en 2013 des recommandations d'adaptations de doses comme suit :

- pour un patient homozygote sauvage (*1/*1) ou ayant une activité enzymatique de la DPD élevée ou normale : la dose recommandée peut être administrée
- pour un patient hétérozygote (*1/*2A ou *1/*13 ou *1/rs67376798) ou ayant une activité de la DPD intermédiaire (activité de la DPD leucocytaire diminuée de 30 à 70%) : la dose initiale doit être réduite de 50% puis doit être réévaluée selon la tolérance et un éventuel dosage pharmacocinétique
- pour un patient homozygote (*2A/*2A ou *13/*13 ou rs67376798/rs67376798) ou ayant une activité enzymatique diminuée : une molécule de chimiothérapie alternative doit être choisie

Boisdron-Celle *et al* (97), en 2007 ont proposé un arbre décisionnel permettant l'adaptation de doses de 5-FU en tenant compte à la fois du génotype *DPYD* et de l'activité enzymatique de la DPD, établie à partir du ratio UH2/U.

Cet arbre pouvant être interprété comme suit :

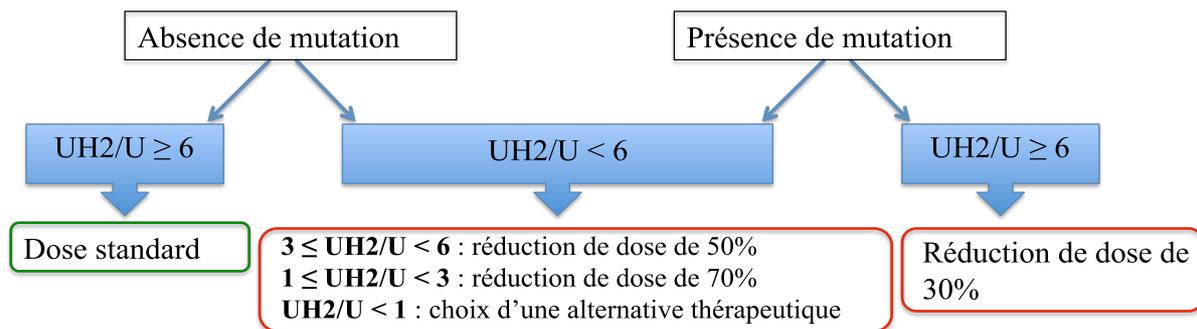


Figure 8 : Adaptations de doses de 5-FU selon les recommandations de Boisdrion Celle *et al*

Henricks *et al* (77) ont proposé en 2015, l'utilisation d'un score d'activité génétique en transposant le génotype *DPYD* en phénotype DPD. En partant du principe que la diminution de l'activité de la DPD variait en fonction de la mutation retrouvée, ils ont individualisé les recommandations d'adaptations de doses des fluoropyrimidines en fonction du génotype. Les génotypes associés à une plus forte diminution d'activité de la DPD entraînaient une réduction de dose plus importante et inversement.

Valeur d'activité	Allèles ou SNPs
0	<i>DPYD*2A</i> <i>DPYD*13</i>
0,5	c.2846A>T
1	<i>DPYD*1</i> (sauvage)
Les valeurs des deux allèles ou SNPs sont additionnées afin d'établir le score d'activité génétique.	

Score d'activité génétique	% de la dose standard
0	Drogue alternative
0,5	25
1	50
1,5	75
2	100

Figure 9 : Calcul d'un score d'activité génétique et adaptations de doses de fluoropyrimidines selon Henricks *et al*

Par ailleurs, plusieurs études dont celle de Lunenburg *et al* (98), ont montré l'intérêt d'une recherche de génotype *DPYD* de manière préventive, afin d'adapter au mieux les doses au profil génétique de chaque patient, tout en les ajustant en fonction de la tolérance.

L'adaptation des doses par le dosage pharmacocinétique du 5-fluorouracile en fonction de la concentration plasmatique peut également être utilisée. Le principe est d'adapter progressivement les doses de 5-fluorouracile pour atteindre une concentration plasmatique

cible. En comparaison avec une dose uniquement adaptée à la surface corporelle, cette méthode permettrait d'augmenter le taux de réponse globale, la durée de survie globale et de diminuer les toxicités de grade 3-4. (123)

2.b Adaptations de doses de l'irinotécan

Innocenti *et al* (124) ont tenté d'établir la dose maximum tolérée et la toxicité limitant la dose de l'irinotécan chez les patients *UGT1A1**1/*1, *1/*28, *28/*28 traités toutes les 3 semaines, avec une dose standard à 350 mg/m².

La dose maximale tolérée était de 850 mg chez les patients *UGT1A1**1/*1, équivalent à une dose de 470 mg/m². Merrouche *et al* (125) avaient par ailleurs montré que la dose de 500 mg/m² pouvait être bien tolérée, mais le génotype *UGT1A1**28 n'avait pas été pris en compte chez ces patients.

Les toxicités doses-limitantes étaient principalement la toxicité médullaire et la diarrhée.

Chez les patients homozygotes *28/*28, la dose la mieux tolérée était de 400 mg soit environ 220 mg/m², correspondant à une réduction de dose de 40% par rapport à la dose standard.

Les patients hétérozygotes*1/*28 toléraient la dose de 700 mg soit environ 390 mg/m², correspondant à une dose supérieure à la dose standard.

Cette étude suggère donc à la fois que les patients hétérozygotes nécessitent une réduction de dose de 40% par rapport à la dose standard et que les patients ne possédant pas de polymorphisme sont en réalité sous-dosés.

Marcuello *et al* (126) ont étudié les adaptations de doses chez des patients traités en première ligne d'un cancer colorectal par le protocole FOLFIRI tous les 15 jours où la dose standard de l'irinotécan est de 180 mg/m². Au final, la dose maximale tolérée pour les patients *28/*28 était inférieure de 30% à la dose standard soit 130 mg/m². L'irinotécan étant peu efficace chez ces patients, un autre protocole de chimiothérapie était préféré.

Pour les patients *1/*28 et *1/*1, les doses tolérées étaient respectivement de 340 et 390 mg/m², donc largement supérieures à la dose standard.

Différentes recommandations d'adaptations de doses ont été émises à la fois aux États-Unis et en Europe.

En novembre 2004, la FDA a modifié le résumé caractéristique produit de l'irinotécan, en recommandant une réduction de dose chez les patients *28/*28. En octobre 2010, elle a

recommandé d'effectuer un génotypage pour rechercher une mutation *28 avant de prescrire de l'irinotécan à un patient (recommandation de niveau 2). (104)

En Europe, à ce jour, aucune recommandation n'a été émise par l'agence européenne du médicament, l'European Medicines Agency (EMA). En France, l'INCa ne recommande pas non plus d'effectuer un génotypage chez les patients atteints de cancer colorectal.

Cette différence de recommandation entre les États-Unis et l'Europe peut s'expliquer en partie par le fait que les pratiques américaines utilisent l'irinotécan selon des protocoles à 350 mg/m² toutes les 3 semaines alors que le schéma bihebdomadaire à 180mg/m² est privilégié en Europe.

Swen *et al* (122) ont publié en 2011 des recommandations d'adaptations de doses en fonction de résultats de tests pharmacogénétiques, issus des recommandations d'un groupe de pharmaciens néerlandais, le DPWG. Aucune adaptation de dose n'était recommandée pour les patients hétérozygotes *UGT1A1**1/*28 ni pour les patients homozygotes *UGT1A1**28/*28 traités avec des doses d'irinotécan inférieures à 250 mg/m². En revanche pour des doses supérieures à 250 mg/m², une réduction de la dose initiale de 30% était recommandée chez les patients porteurs homozygotes du variant, cette dose pouvant ensuite être progressivement augmentée en fonction de la tolérance hématologique.

En février 2014, la FFCD a recommandé d'effectuer une recherche de l'allèle *UGT1A1**28 chez les patients traités par FOLFIRI à haute dose (dose d'irinotécan \geq à 240 mg/m²).

En 2015, Etienne-Grimaldi *et al* (104) ont publié des recommandations émises par le groupe GPCO-Unicancer et le RNPGx et ont proposé un arbre décisionnel prenant en compte le génotype *UGT1A1*, la dose prévue d'irinotécan et le score PS.

En premier lieu, ils recommandent d'effectuer une recherche des variants de l'*UGT1A1* intéressant la TATA box (*28, *36, et *37) chez tous les patients devant être traités par une dose d'irinotécan \geq à 180 mg/m² (l'allèle *36 pouvant être interprété comme un allèle *1 et l'allèle *37 comme un allèle *28).

Pour des doses inférieures à 180 mg/m² le génotypage n'est pas recommandé, considérant que les toxicités hématologiques et gastro-intestinales sont quasi similaires quel que soit le génotype.

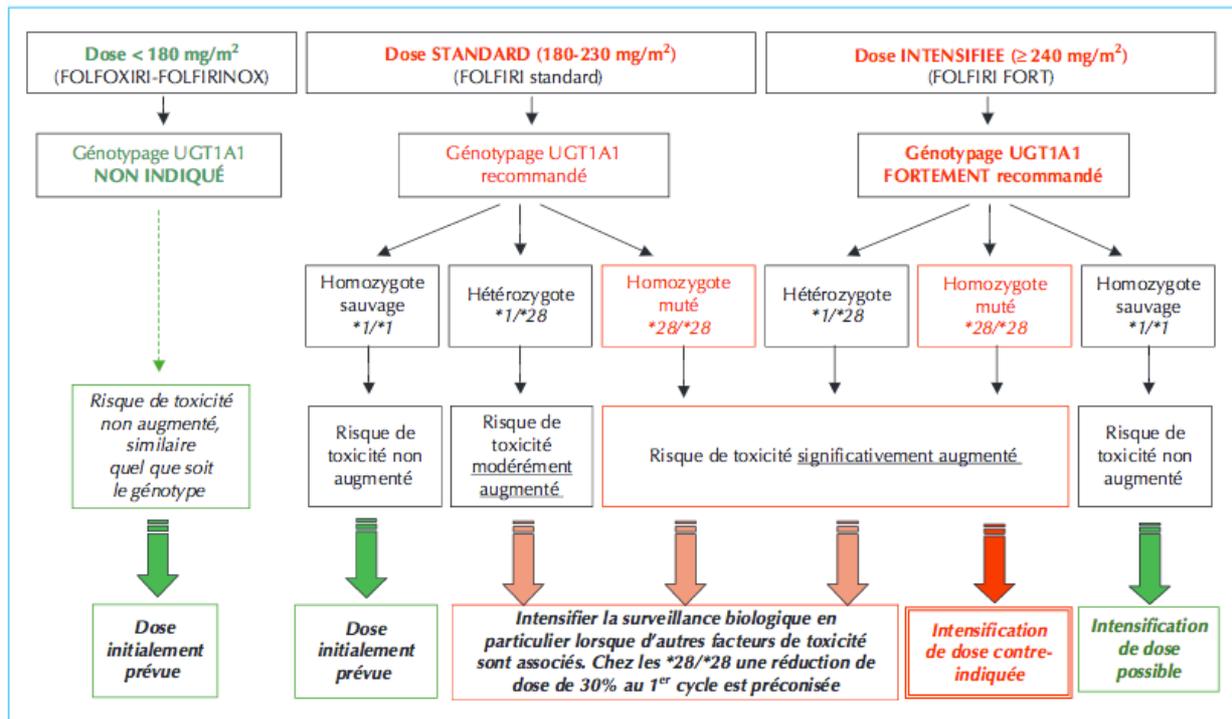


Figure 10 : Recommandations d’adaptations de doses de l’irinotécan selon Etienne-Grimaldi *et al*

Pour des doses d’irinotécan entre 180 et 230 mg/m^2 , une réduction de dose de 30% est recommandée chez les patients *28/*28 à la première cure, en particulier chez les patients ayant des facteurs de risque, notamment un score PS > 3. La dose est ensuite réajustée aux cures suivantes en fonction de la tolérance.

Pour des doses d’irinotécan $\geq 240 \text{ mg/m}^2$ toutes les 2 ou 3 semaines, la molécule peut être administrée chez les patients *1/*1 ou *1/*28 n’ayant pas de facteurs de risque associés, sous surveillance médicale accrue. Ces doses sont contre-indiquées chez les patients *28/*28 du fait d’un risque élevé de toxicité hématologique.

Cependant, ces recommandations ne prennent pas en compte les mutations *6 et *27 retrouvées fréquemment dans les populations asiatiques.

3. Situation au CHU de Limoges

3.a Pour les fluoropyrimidines

Actuellement, le service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges propose la réalisation d’un génotypage de la *DPYD*. Le phénotypage par mesure de l’activité de la DPD grâce au rapport UH2/U est réalisé par le laboratoire de biologie médicale oncologique de l’IUCT Oncopole.

En général, ces demandes sont réalisées lors de la survenue d'une toxicité de grade 3 à 4 après une première cure de 5-fluorouracile ou de capécitabine.

Concernant le génotypage, trois SNPs impliqués dans le déficit en DPD sont recherchés : c.1905+1G>A (allèle *DPYD*2A*), c.1679T>G (allèle *DPYD*13*) et c.2846A>T (rs6736798).

La recommandation d'adaptation de dose émise par le biologiste tient compte à la fois des résultats de phénotypage et de génotypage et suit les recommandations de Boisdron-Celle *et al.* (97)

3.b Pour l'irinotécan

Le service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges propose de réaliser un génotypage de l'*UGT1A1*. Cette recherche se fait en règle générale après l'apparition d'une toxicité de grade 3 ou 4 après la première cure d'irinotécan.

Seul le variant *UGT1A1*28* est recherché et une recommandation d'adaptation de dose est réalisée en fonction de l'arbre décisionnel d'Etienne-Grimaldi *et al* (104).

Pour les individus hétérozygotes *1/*28 :

- Dose < 180 mg/m² : pas d'adaptation posologique
- Dose ≥ 180 mg/m² : pas de réduction de dose mais surveillance intensifiée en particulier si d'autres facteurs de toxicité sont associés.

Pour les individus homozygotes *28/*28 :

- Dose < 180 mg/m² : pas d'adaptation posologique
- Dose ≥ 180 mg/m² : une réduction de dose de 25 à 30% au premier cycle est recommandée en particulier si d'autres facteurs de toxicité sont associés. L'intensification de dose est contre-indiquée chez les patients porteurs de ce SNP.

3.c Conditions de prélèvement et rendu des résultats

Concernant la recherche des génotypes, comme pour tout examen des caractéristiques génétiques, un formulaire de consentement de prélèvement doit être signé par le patient, après avoir reçu toutes les informations nécessaires par le médecin.

L'activité de la DPD variant de façon circadienne, tous les prélèvements sanguins destinés au phénotypage doivent être réalisés entre 8 et 10 heures du matin.

Le rendu des résultats se fait en général sous 8 à 10 jours.

VI. Matériels et méthodes

1. Introduction

Bien que la réalisation de tests pharmacogénétiques de manière rétrospective permette d'expliquer en partie la survenue de toxicités sévères, leur utilisation en pré-thérapeutique s'avère également intéressante, afin de pouvoir adapter les doses de traitement anticancéreux dès la première cure et de limiter ainsi l'apparition des toxicités.

Nous avons jugé intéressant de comparer deux types de données :

- d'une part des données rétrospectives des génotypages de la *DPYD* et de l'*UGT1A1* ainsi que des phénotypages de la DPD réalisés au CHU de Limoges,
- d'autre part des données prospectives du CHU de Limoges et de l'IUCT Oncopole avec la réalisation de ces mêmes tests pharmacogénétiques chez les patients allant recevoir leur première cure de fluoropyrimidine ou d'irinotécan afin que les médecins aient les résultats avant le début du traitement pour adapter les doses dès la première cure.

Ces deux types de données ont été comparées afin d'observer quelles différences existaient en terme de résultats pharmacogénétiques, de toxicités et d'adaptations de doses entre ces deux études.

2. Recueil de données

Nous avons recueilli les données des patients traités au CHU de Limoges au sein des dossiers patients remplis par les médecins oncologues.

Les données récupérées concernaient :

- des facteurs généraux : le sexe, l'âge, le score PS, la taille, le poids, la surface corporelle lors de la première cure de traitement,
- des facteurs nutritionnels : l'albuminémie, l'indice de masse corporelle (IMC),
- des valeurs biologiques : la clairance MDRD,
- des comorbidités : antécédents cardiovasculaires, métaboliques, hépatiques et rénaux,
- le type de pathologie, le type de traitement,
- le protocole de traitement utilisé lors de la réalisation des tests pharmacogénétiques avec ses doses théoriques et l'association éventuelle à une thérapie ciblée,
- la ou les molécule(s) reçue(s) : 5-fluorouracile ou capécitabine, irinotécan,
- la date de la première cure par fluoropyrimidines ou irinotécan,
- le numéro de la cure à laquelle est apparue une toxicité,

- les toxicités retrouvées ainsi que leurs grades : celles ayant conduit à une recherche de déficit en DPD ou en UGT1A1 pour les études rétrospectives, et l'ensemble des toxicités survenues après chaque cure pour l'étude prospective,
- les réductions de doses éventuelles réalisées à chaque cure pour le bolus de 5-FU, la perfusion continue de 5-FU, la capécitabine ou l'irinotécan,
- la première cure à laquelle était réalisée la réduction de dose et le nombre de cures réalisées avec une réduction de dose.

Les données de pharmacogénétique ont été transmises par le service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance du CHU de Limoges et l'IUCT Oncopole :

- les génotypes *DPYD* et *UGT1A1*,
- le phénotype DPD (rapport UH2/U) : $<$ ou ≥ 6 et valeur exacte,
- les recommandations d'adaptations de doses effectuées,
- la date à laquelle les prélèvements ont été réalisés.

Afin d'affiner nos résultats concernant le rapport UH2/U, nous avons classé les patients en 5 classes différentes :

1 $<UH2/U < 2,9$
3 $<UH2/U < 5,9$
6 $<UH2/U < 8,9$
9 $<UH2/U < 14,9$
$UH2/U \geq 15$

Nous souhaitons ainsi voir s'il était possible d'affiner les recommandations d'adaptations de dose en fonction du rapport UH2/U.

2.a Données rétrospectives

Nous avons recueilli les données rétrospectives des patients ayant eu une demande de recherche de déficit en DPD ou en UGT1A1 sur la période d'avril 2015 à avril 2016 au CHU de Limoges.

Sur la période recueillie, nous avons récupéré les données suivantes :

- 39 patients pour lesquels ont été effectués un génotypage de la *DPYD* et/ou un phénotypage de la DPD
- 17 patients pour lesquels a été réalisé un génotypage du gène *UGT1A1*

2.b Données prospectives

De janvier à mai 2016, a été mis en place au CHU de Limoges, la réalisation systématique de recherches de déficit en DPD ou en UGT1A1 chez les nouveaux patients traités par 5-fluorouracile, capécitabine et/ou irinotécan. Le prélèvement du patient était réalisé après la consultation d'annonce ou de changement de ligne, entre 8 et 10 heures. Les résultats étaient récupérés avant la première venue du patient en hôpital de jour pour recevoir sa chimiothérapie et permettre ainsi une adaptation de la dose en fonction du génotype et/ou du phénotype dès la première cure.

Les données collectées pour l'IUCT Oncopole ont été récoltées de septembre 2015 à mai 2016.

L'adaptation des doses était réalisée selon les recommandations d'adaptations de doses suivantes :

- fluoropyrimidines : selon l'arbre décisionnel de Boisdron-Celle *et al* (97)
- irinotécan : selon l'arbre décisionnel d'Etienne-Grimaldi *et al* (104)

Les tests ont été réalisés chez 76 patients, dont seuls 70 ont finalement été traités avec du 5-FU et/ou de la capécitabine et/ou de l'irinotécan. 18 patients provenaient du CHU de Limoges, 51 de l'IUCT Oncopole et 1 patient de la clinique Chénieux de Limoges.

3. Méthode statistique

L'ensemble des données recueillies a été saisi dans un tableur Excel et analysé grâce au logiciel d'analyses statistiques Statview (SAS Institute V5.0) et R (V2.10.1). Concernant la description des variables, les variables quantitatives sont exprimées en nombre, moyenne, médiane, écart type, minimum et maximum. Les variables qualitatives sont exprimées en nombre et pourcentage. Pour l'étude des relations entre les différentes variables (analyse bivariée), nous avons utilisé les tests suivants : tests t de Student pour la comparaison des moyennes, Chi² de tendance pour les variables qualitatives ordonnées, modèles de régression logistique bivariée pour la comparaison des variables qualitatives. Le seuil de significativité retenu pour l'ensemble des analyses a été fixé à 5%.

4. Objectifs de l'étude

- Objectifs des études rétrospectives

Dans cette étude nous avons cherché à évaluer :

- si les demandes de recherche de déficits de façon rétrospective correspondaient bien à des patients chez qui était survenue une toxicité de grade 3 ou 4,
- si les patients ayant présenté une toxicité de grade 3 ou 4 avaient réellement un déficit en DPD ou en UGT1A1 ou si d'autres facteurs pouvaient expliquer cette toxicité,
- dans quels délais les toxicités étaient apparues et quels types de toxicités étaient les plus fréquemment retrouvés pour les différentes molécules,
- quelles adaptations de doses ont été réalisées, si elles étaient conformes à la recommandation effectuée par le biologiste, durant combien de cures et leur évolution dans le temps,
- si les adaptations de doses variaient en fonction du génotype, du phénotype, de la dose théorique du protocole, en fonction de la survenue ou non d'une toxicité de grade 3-4,
- les différences retrouvées entre les réductions de doses des différents modes d'administration des fluoropyrimidines : bolus de 5-FU, perfusion continue de 5-FU, capécitabine.

- Objectifs de l'étude prospective

Dans l'étude prospective nous avons cherché à savoir :

- quels génotypes et phénotypes étaient retrouvés chez les patients traités,
- quelles toxicités apparaissaient, de quel grade et dans quels délais et si d'autres facteurs pouvaient être responsables de l'apparition de ces toxicités,
- quelles réductions de doses étaient réalisées chez les patients déficitaires en DPD et UGT1A1 ou non déficitaires mais ayant présenté des toxicités,
- à partir de quelle cure ont été réalisées ces réductions de doses, durant combien de cures et leur évolution dans le temps,
- si les réductions de doses variaient en fonction des résultats des tests pharmacogénétiques, de la dose théorique du protocole,
- si des différences étaient retrouvées entre les réductions de doses des différents modes d'administration des fluoropyrimidines : bolus de 5-FU, perfusion continue de 5-FU, capécitabine.

- Comparaison des données rétrospectives et prospectives

Une comparaison entre les deux types de données a été effectuée concernant les résultats pharmacogénétiques, les toxicités retrouvées et les adaptations de doses réalisées chez les

patients traités par 5-FU, capécitabine ou irinotécan en fonction de leurs génotypes *DPYD* et *UGT1A1* et de leur phénotype DPD.

5. Participation à l'étude « FUSAFE »

Dans le cadre de la réalisation de cette thèse, il m'a été proposé de participer à l'élaboration du questionnaire à destination des biologistes au sein de l'étude « FUSAFE ».

Ce questionnaire, destiné à être testé auprès des biologistes membres du groupe GPCO-Unicancer et du RNPGx a pour but d'évaluer les pratiques actuelles des laboratoires privés et publics dans la recherche des déficits en DPD.

Un questionnaire destiné aux oncologues avait déjà été diffusé afin d'évaluer leurs pratiques de prescription des fluoropyrimidines, de demandes de dépistages et d'adaptations de doses.

Le questionnaire réalisé pour les biologistes se scindait en différentes parties :

- le profil du laboratoire, sa pratique ou non de tests pharmacogénétiques
- les prescriptions de recherche de déficit : le profil des médecins prescripteurs, le contexte de la prescription (préventif ou recherche post-toxicité)
- la pratique hospitalière du génotypage et/ou du phénotypage : méthodes utilisées, SNPs recherchés, quantification de l'activité, coût...
- le rendu des résultats : la définition donnée par le biologiste pour un déficit complet ou partiel, les recommandations d'adaptations de doses réalisées
- les freins et motivations au développement de la recherche du déficit en DPD au sein du laboratoire, dans le cas où une recherche préventive du déficit pour tous les patients traités par fluoropyrimidines se généraliserait

VII. Résultats

1. Données rétrospectives des génotypages de la *DPYD* et des phénotypages de la DPD

1.a Caractéristiques de la population

Des recherches de déficit en DPD ont été réalisées chez 39 patients, dont 2 n'ayant jamais été traités par fluoropyrimidines, donc non inclus dans les analyses statistiques.

Tableau VIII : Caractéristiques de la population traitée par fluoropyrimidines

Caractéristiques		n = 37	%
Sexe	Masculin	19	51,4%
	Féminin	18	48,6%
Âge (années)	médiane (mini-maxi)	64 [33 - 87]	
Surface corporelle (m ²)		1,75 [1,3 - 2,2]	
IMC (kg.m ⁻²)		24,3 [14,8 - 46,9]	
Albuminémie (g.L ⁻¹) (Normales : 35 - 50 g. L ⁻¹) n=36		38,2 [24,7 - 46,3]	
Clairance MDRD (mL/min/1,73m ²)		107,7 [48,8 - 255,2]	
Score PS	0	21	56,8%
	1	10	27,0%
	2	6	16,2%
	3	0	0%
	4	0	0%
Antécédents	Cardiovasculaires	27	70,2%
	Neurologiques	2	5,4%
	Métaboliques	7	18,9%
	Rénaux	1	2,7%
	Hépatiques	6	16,2%
Pathologie	Adénocarcinome de tumeur primitive inconnue (ACUP)	1	2,7%
	Canal anal	4	10,8%
	Côlon	6	16,2%
	Estomac	2	5,4%
	ORL	9	24,3%
	Pancréas	2	5,4%
	Rectum	7	18,9%
	Sein	2	5,4%
Oesophage	4	10,8%	
Molécule reçue	5-FU	35	94,6%
	Capécitabine	6	16,2%
Type de traitement	Adjuvant	8	21,6%
	Métastatique	16	43,2%
	Néo-adjuvant	9	24,3%
	Association à la radiothérapie	4	10,8%
Traitements reçus	Bolus de 5-FU	22	59,5%
	Perfusion continue de 5-FU	35	94,6%
	Capécitabine	6	16,2%

A la date du 30 Juin 2016, 14 des patients étaient décédés.

4 patients ont reçu à la fois un traitement par 5-FU et par capécitabine.

- Protocoles utilisés lors de la réalisation des tests pharmacogénétiques

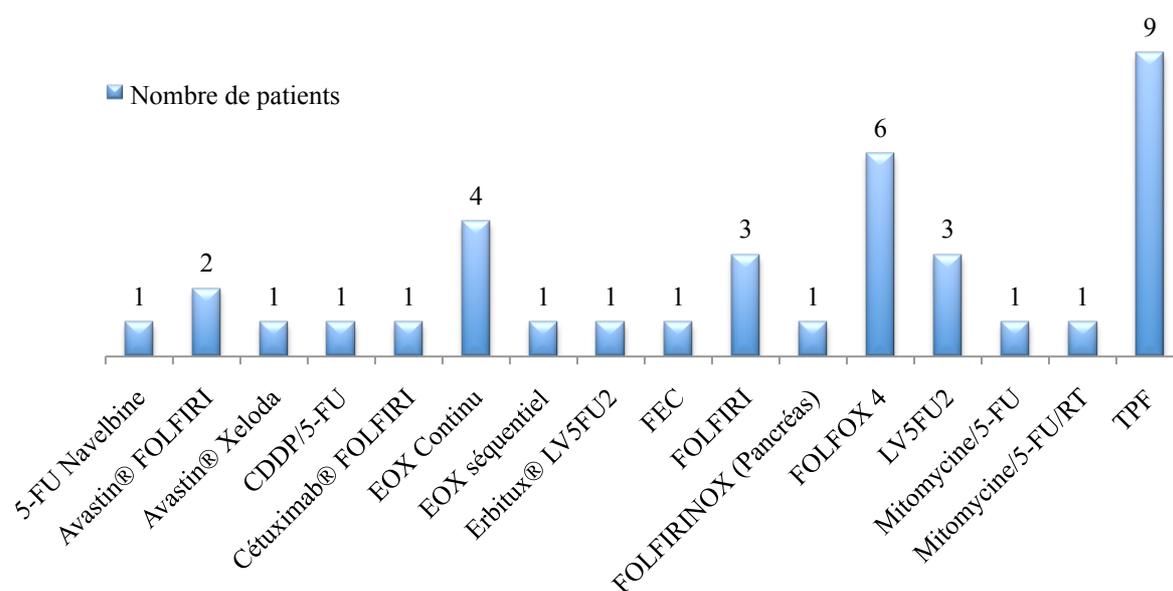


Figure 11 : Protocoles utilisés chez les patients traités par fluoropyrimidines

Aucune thérapie ciblée par aflibercept ou panitumumab n'était utilisée, 3 patients étaient traités avec du bévacicumab (8,1%) et 2 avec du cétuximab (5,4%).

On observe une grande variabilité des protocoles utilisés. Le protocole TPF était le protocole le plus utilisé chez 9 patients (24,3%) suivi du FOLFOX 4 et du FOLFIRI seul ou en association avec une thérapie ciblée (6 patients ; 16,2%) puis de l'EOX continu (4 patients ; 10,8%).

1.b Génotypes *DPYD* et phénotypes DPD

Tableau IX : Génotypes *DPYD* et phénotypes DPD retrouvés chez les patients de l'étude rétrospective

Résultats		n = 37	%
Génotype <i>DPYD</i>	Homozygote <i>DPYD</i> *2A	0	0 %
	Hétérozygote <i>DPYD</i> *2A	3	8,1%
	Sauvage	34	91,9%
Phénotype DPD	UH2/U <6	8	21,6%
	UH2/U ≥ 6	29	78,4%
	Valeur médiane (mini-maxi) Rapport UH2/U n = 32	9,3 [2,2 – 32,2]	

Chez 5 patients, la valeur exacte du rapport UH2/U n'était pas connue, seule l'information UH2/U \geq 6 ou UH2/U <6 était connue.

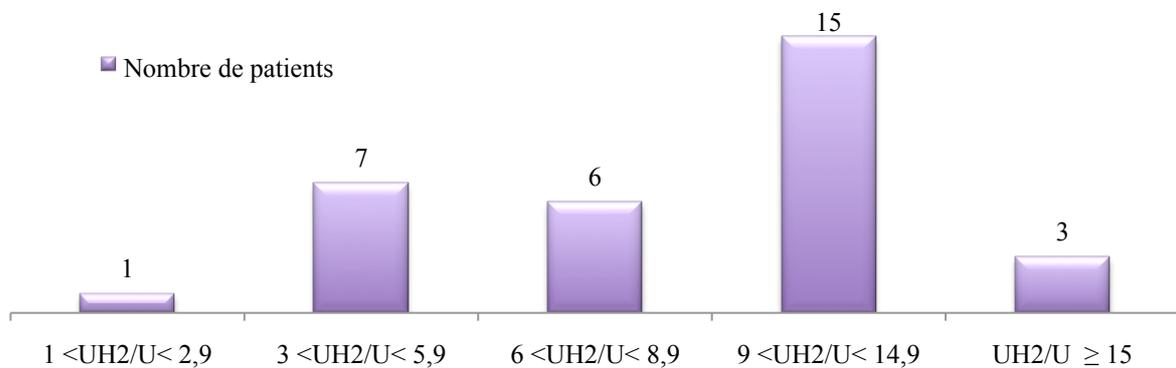


Figure 12 : Distribution du rapport UH2/U selon différentes classes chez les patients traités par fluoropyrimidines (n=32)

1.c Toxicités

- Délai d'apparition de la toxicité

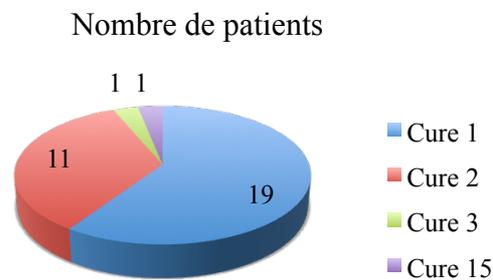


Figure 13 : Délai d'apparition de la toxicité de grade 1-2 ou de grade 3-4

Les toxicités apparaissaient majoritairement après la première cure (19 patients ; 59%) ou la deuxième (11 patients ; 35%). Chez un patient, la toxicité est survenue très tardivement à la 15^{ème} cure.

- Toxicités retrouvées

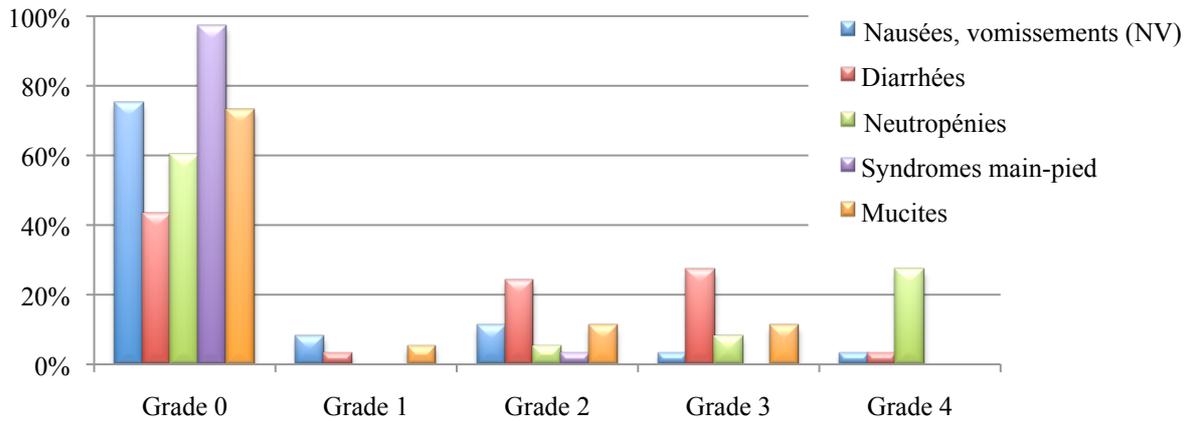


Figure 14 : Toxicités et grades retrouvés chez les patients traités par fluoropyrimidines

Les principales toxicités retrouvées étaient des diarrhées de grade 2 et de grade 3 (chez 24 et 27% des patients) ainsi que des neutropénies de grade 4 (chez 27% des patients). Un seul patient, traité par capécitabine, a présenté un syndrome main-pied, de grade 2.

Les autres toxicités retrouvées étaient des toxicités hématologiques (anémie, thrombopénie), neurotoxicité de grade 1, asthénie de grade 1 et 2, hyperbilirubinémie, syndrome occlusif, épistaxis, constipation, syndrome occlusif, choc septique, douleurs abdominales, altération de l'état général, accident vasculaire cérébral (AVC).

- Toxicités de grade 1-2

21 patients ont présenté des toxicités de grade 1-2 seules ou associées, soit 57%.

- Toxicités de grade 3-4

Au total, 22 patients pour lesquels une recherche de déficit avait été demandée avaient réellement présenté une toxicité de grade 3-4 soit 59%. Ces toxicités étaient réparties comme suit :

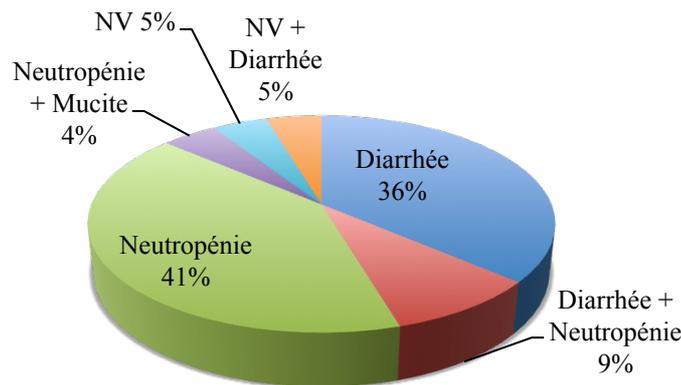


Figure 15 : Toxicités de grade 3-4 retrouvées chez les patients traités par fluoropyrimidines

- Association entre l'apparition de toxicités de grade 3-4 et le rapport UH2/U

Chez les patients ayant présenté une toxicité de grade 3-4, la valeur médiane du rapport UH2/U était de 7,0 [2,2 – 17,5] alors qu'elle était de 12,8 [8,4 – 32,2] chez ceux n'en ayant pas présenté. Tous les patients ayant un rapport UH2/U inférieur à 6 ont présenté une toxicité de grade 3-4 durant leur traitement.

L'association entre les deux variables n'est cependant pas significative ($p = 0,0057$).

- Association entre l'apparition de toxicités de grade 3-4 et autres facteurs

Il n'a pas non plus été retrouvé d'association significative entre la survenue de toxicités de grade 3-4 et la surface corporelle, l'IMC, l'albuminémie, l'âge, la clairance MDRD, le score PS, le sexe, les antécédents, le type de traitement, la pathologie, le protocole utilisé, l'utilisation de bévacizumab ou de cétuximab, ou la molécule utilisée (5-FU ou capécitabine).

- Association entre l'apparition de toxicités de grade 3-4 et la dose théorique de la perfusion continue de 5-FU

Il a été retrouvé une association significative entre la survenue d'une toxicité de grade 3-4 et la dose protocolaire de la perfusion continue de 5-FU ($p=0,0216$).

De la même manière, la survenue d'une toxicité de grade 3-4 était significativement supérieure chez les patients traités par une dose de perfusion continue $> 2400 \text{ mg/m}^2$ (84,6%) par rapport à ceux traités avec une dose $\leq 2400 \text{ mg/m}^2$ (42,9%) ($p=0,0408$).

Les doses de capécitabine et du bolus de 5-FU variant peu entre les différents patients, l'association entre la dose théorique et la survenue d'une toxicité de grade 3-4 n'a pas été recherchée.

1.d Réductions de doses

- Réduction moyenne des doses

16 patients (72,7%) ont présenté une réduction de dose du bolus de 5-FU et 20 patients (57,1%) une réduction de dose de la perfusion continue de 5-FU. Un seul patient traité par capécitabine a présenté une réduction de dose (16,7%).

Tableau X : Pourcentage moyen de réduction de dose et pourcentage de cures réalisées avec une réduction de dose en fonction du traitement

	Bolus 5-FU	Perfusion continue 5-FU	Capécitabine
Pourcentage moyen de réduction de dose médiane (mini-maxi)	45,6% [2,7 – 100]	38% [3,1 – 51,9]	27,8% [27,8 – 27,8]
Pourcentage de cures réalisées avec une réduction de dose moyenne ± écart type	44,8% ± 38,6	39,9% ± 37	11,1% ± 27,2

Le pourcentage moyen de réduction du bolus était significativement supérieur à celui de la perfusion continue de 5-FU ($p = 0,0237$).

En moyenne, seules 11,1% des cures de capécitabine ont été réalisées avec une réduction de dose, contre 44,8% et 39,9% pour le bolus et la perfusion continue de 5-FU. Le pourcentage de cures réalisées avec une réduction de dose du bolus de 5-FU n'était pas significativement supérieur à celui de la perfusion continue.

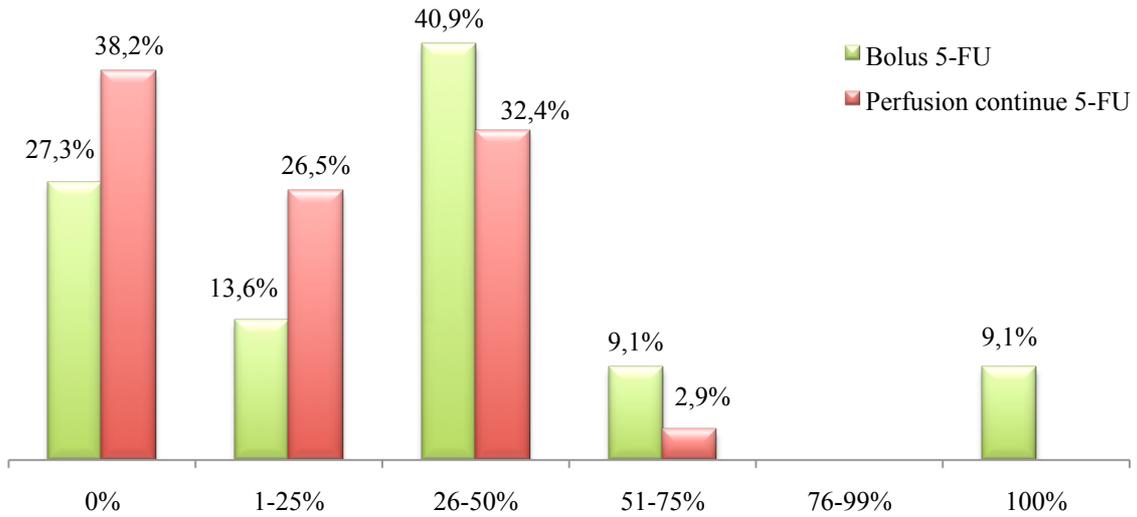


Figure 16 : Pourcentage moyen de réduction de dose du bolus ou de la perfusion continue de 5-FU

La majorité des réductions de doses effectuées étaient inférieures ou égales à 50%. 9,1% des patients ont eu une réduction totale de la dose du bolus de 5-FU.

- Première cure réalisée avec une réduction de dose

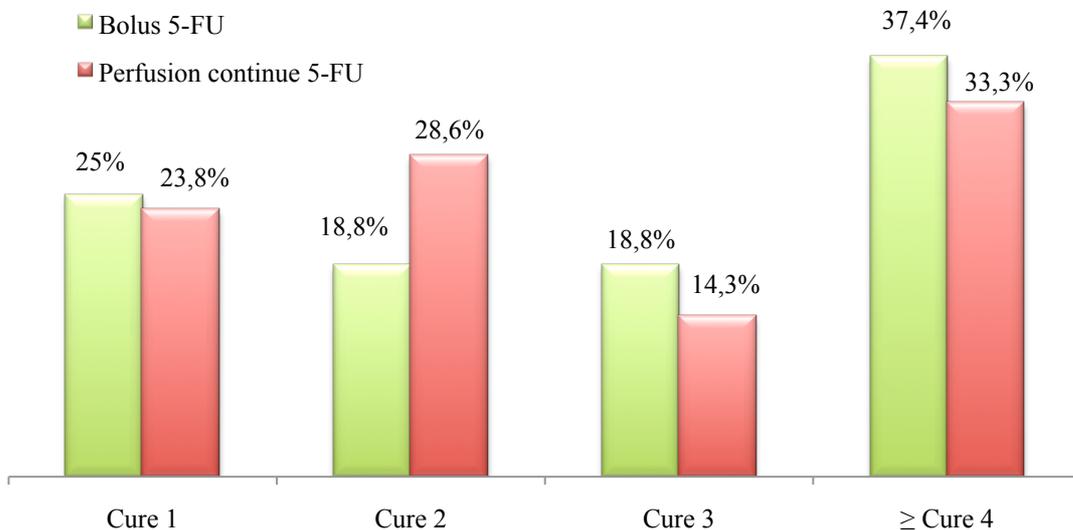


Figure 17 : Première cure réalisée avec une réduction de dose pour le bolus et la perfusion continue de 5-FU

La réduction de dose était réalisée dans plus d'un tiers des cas à partir de la 4^{ème} cure, à la fois pour le bolus et la perfusion continue de 5-FU.

- Évolution de la réduction de dose dans le temps

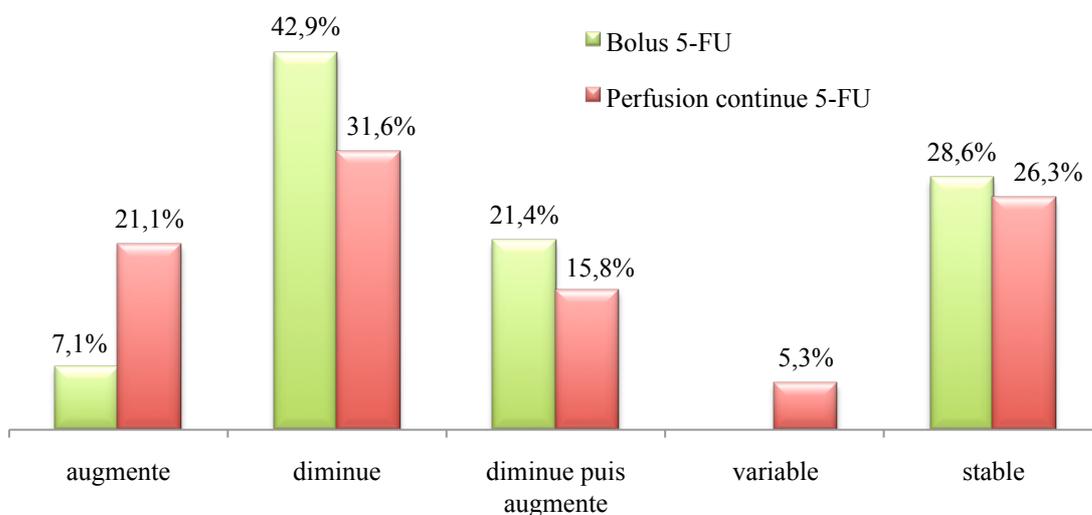


Figure 18 : Évolution de la réduction de dose chez les patients traités par bolus ou perfusion continue de 5-FU

Chez la majorité des patients, on a observé une diminution de la réduction de dose au fur et à mesure des cures. Chez 5 patients, les doses ont été augmentées après une recherche de déficit en DPD qui s'est avérée négative.

Un seul patient traité par capécitabine a subi une réduction de dose à partir de la deuxième cure qui était stable dans le temps, conformément aux recommandations du RCP.

- Réductions de doses en fonction de la toxicité et des résultats pharmacogénétiques

Tableau XI : Pourcentage moyen de réduction de dose du 5-FU en fonction de la survenue de toxicités de grade 3-4, du génotype *DPYD* et du phénotype DPD

		Pourcentage moyen de réduction de dose de 5-FU médiane (mini-maxi)	
		Bolus	Perfusion continue
Toxicités de grade 3-4	Présence	46% [22-63]	38% [23-52]
	Absence	44% [3-100]	25% [3-50]
Génotype <i>DPYD</i>	Hétérozygote <i>DPYD*2A</i>	52% [50-54]	38% [38-38]
	Sauvage	41% [3-100]	37% [3-52]
Phénotype DPD	UH2/U <6	54% [50-63]	44% [33-52]
	UH2/U ≥ 6	40% [3-100]	25% [3-50]
Classe UH2/U	1 <UH2/U< 2,9	54% [54-54]	38% [38-38]
	3 <UH2/U< 5,9	56% [50-63]	50% [33-52]
	6 <UH2/U< 8,9	46% [3-100]	45% [12-50]
	9 <UH2/U< 14,9	35% [17-50]	23% [7-43]
	UH2/U ≥ 15	Absence de données	25% [25-25]

Contrairement à ce qui était attendu, il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les pourcentages de réduction du bolus et de la perfusion continue de 5-FU en fonction de la survenue d'une toxicité de grade 3-4 et les différents résultats de pharmacogénétique.

- Association entre la réduction de dose réalisée et la dose théorique de la perfusion continue de 5-FU

Il n'a pas été retrouvé d'association significative entre le pourcentage moyen de réduction de la perfusion continue de 5-FU et la dose théorique de celle-ci (supérieure ou inférieure à 2400 mg/m²).

- Différence entre la réduction de dose réalisée et la réduction de dose recommandée par le biologiste

Tableau XII : Différence entre la réduction moyenne de dose réalisée et la réduction de dose recommandée par le biologiste

		Bolus de 5-FU	Perfusion continue de 5- FU	Capécitabine
Pourcentage de différence entre la réduction de dose réalisée et recommandée	moyenne ± écart type	+25,8% ± 31,3	+8,7% ± 22,2	-12% ± 20,6

Les réductions de dose moyennes du bolus et de la perfusion continue de 5-FU étaient en moyenne supérieures à la réduction de dose recommandée, avec une valeur moyenne de +25,8% et de + 8,7%.

Pour le bolus de 5-FU, la différence entre la réduction de dose réalisée et recommandée était significativement supérieure à celle de la perfusion continue ($p < 0,001$).

La réduction de dose moyenne de la capécitabine était en moyenne inférieure à la réduction de dose recommandée, avec un pourcentage moyen de -12%.

2. Données rétrospectives des génotypes de l'UGT1A1

2.a Caractéristiques de la population

Un déficit en UGT1A1 a été recherché chez 17 patients mais 6 d'entre eux (35,3%) n'ont en réalité jamais reçu d'irinotécan et n'ont pas été inclus dans les analyses statistiques.

Tableau XIII : Caractéristiques de la population traitée par irinotécan

Caractéristiques		n = 11	%
Sexe	Masculin	7	63,6%
	Féminin	4	36,4%
Âge (années)	médiane (mini-maxi)	72 [43 – 87]	
Surface corporelle (m ²)		1,73 [1,34 - 2]	
IMC (kg.m ⁻²) : médiane (mini-maxi)		23,2 [14,8 – 35,2]	
Albuminémie (g.L ⁻¹) : (Normales : 35 – 50 g. L ⁻¹)		38,9 [30 – 45,7]	
Clairance MDRD (mL/min/1,73m ²)		78,4 [48,8 – 160,9]	
Score PS (n = 10)	0	4	40%
	1	5	50%
	2	1	10%
	3	0	0%
	4	0	0%
Antécédents	Cardiovasculaires	9	81,8%
	Neurologiques	1	9,09%
	Métaboliques	1	9,09%
	Rénaux	0	0%
	Hépatiques	0	0%
Pathologie	Voies biliaires	1	9,1%
	Canal anal	1	9,1%
	Côlon	5	45,5%
	Pancréas	1	9,1%
	Poumon	1	9,1%
	Rectum	2	18,2%
Type de traitement	Adjuvant	2	18,2%
	Métastatique	9	82,8%

À la date du 30 Juin 2016, 3 patients étaient décédés.

- Protocoles utilisés lors de la réalisation des tests pharmacogénétiques

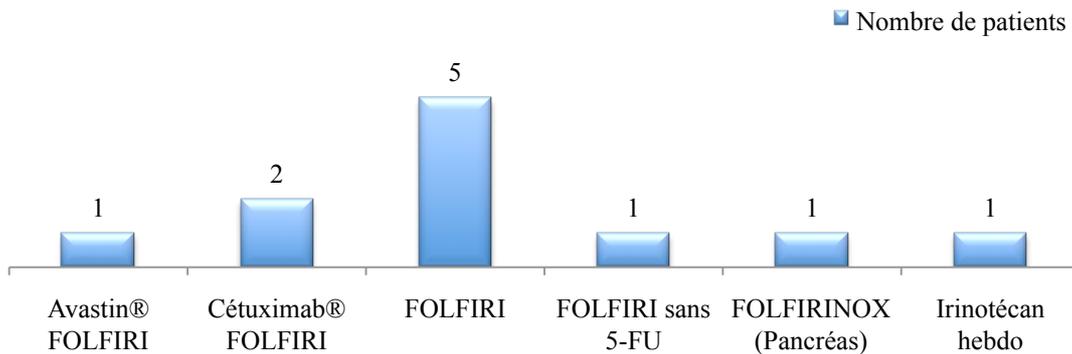


Figure 19 : Protocoles utilisés chez les patients traités par irinotécan

La majorité des patients (45,5%) étaient traités selon le protocole FOLFIRI et seuls 2 patients (18,2%) n'étaient pas traités par une association avec le 5-fluorouracile : un des patients ayant des antécédents cardiovasculaires a reçu un protocole de type FOLFIRI avec seulement de l'irinotécan, l'autre a été traité par de l'irinotécan en monothérapie pour un cancer du poumon.

Un seul patient était traité en association avec le bévacizumab (9,1%) et 2 patients avec le cétuximab (18,2%).

2.b Génotypes UGT1A1

Tableau XIV : Génotypes *UGT1A1* retrouvés chez les patients de l'étude rétrospective

Résultats		n = 11	%
Génotype <i>UGT1A1</i>	Homozygote <i>UGT1A1</i> *28	2	18,2 %
	Hétérozygote <i>UGT1A1</i> *28	8	72,7 %
	Sauvage	1	9,1 %

La majorité des patients chez lesquels une recherche de déficit en *UGT1A1* avait été effectuée présentaient un génotype homozygote ou hétérozygote *UGT1A1**28 (90,9%).

Chez les 4 patients homozygotes *UGT1A1**28, une réduction de dose de 30% a été recommandée.

Chez les 6 patients n'ayant pas reçu finalement de chimiothérapie par irinotécan, 2 étaient homozygotes *UGT1A1**28, 3 étaient hétérozygotes *UGT1A1**28 et 1 avait un génotype sauvage.

2.c Toxicités

- Délai d'apparition de la toxicité

Chez 6 patients (54,5%), la toxicité est apparue après la première cure et chez 2 patients (18,2%) après la deuxième cure. 2 patients ont fait l'objet d'une recherche de déficit en UGT1A1 malgré l'absence de toxicités.

Pour un patient ayant présenté des toxicités de grade 3, le délai d'apparition n'est pas connu.

- Toxicités retrouvées chez les patients ayant bénéficié d'un génotypage de l'UGT1A1

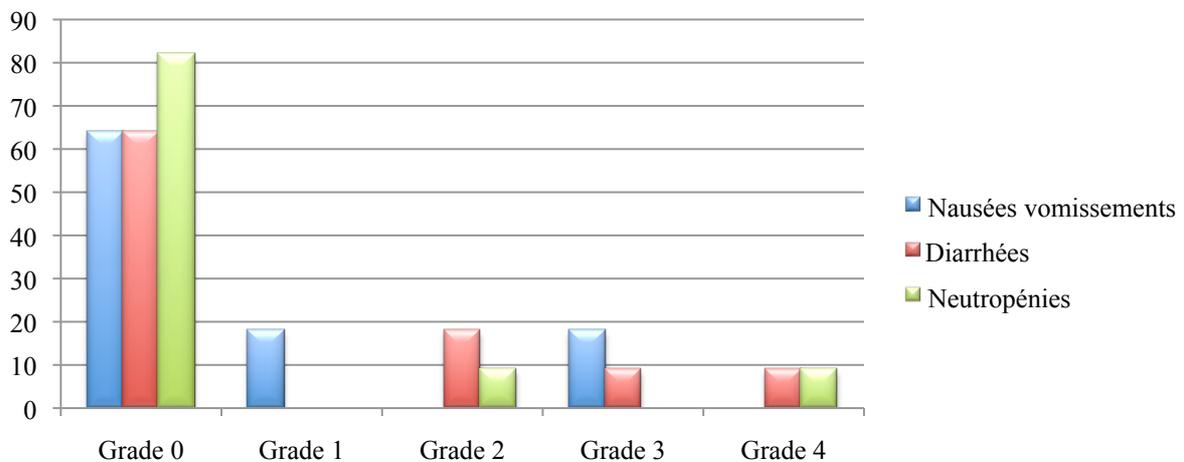


Figure 20 : Toxicités et grades retrouvés chez les patients traités par irinotécan

Les principales toxicités retrouvées étaient des nausées et vomissements de grade 1 et 3 et des diarrhées de grade 2. Les autres toxicités retrouvées étaient les suivantes : alopecie de grade 1, asthénie de grade 1 et 2 et neurotoxicité de grade 1.

- Toxicités de grade 1-2

6 patients ont présenté une toxicité de grade 1-2, soit 55%.

Les toxicités retrouvées étaient une diarrhée (2 patients), une neutropénie (1 patient), une alopecie et une asthénie (1 patient), des nausées et vomissements (1 patient), des nausées, vomissements et une asthénie (1 patient).

- Toxicités de grade 3-4

4 patients ont présenté une toxicité de grade 3-4, soit 36%. Les toxicités retrouvées étaient les suivantes :

- diarrhée,
- neutropénie,
- nausées et vomissements,
- nausées, vomissements et diarrhée.

- Association entre l'apparition de toxicités de grade 3-4 et autres facteurs

Il n'a pas été retrouvé d'association significative entre la survenue de toxicités de grade 3-4 et la surface corporelle, l'IMC, l'albuminémie, l'âge, la clairance MDRD, le score PS, le sexe, les antécédents, le type de traitement, la pathologie, le protocole utilisé, l'utilisation de bévacizumab ou de cétuximab ou la dose théorique d'irinotécan.

2.d Réductions de doses

- Pourcentage de cures avec réduction de dose

La valeur médiane du pourcentage de cures réalisées avec une réduction de dose était de 70 % [0 – 100]. La moyenne était de 61,1% ± 42,5%.

- Pourcentage moyen de réduction de dose

La valeur médiane des réductions de doses d'irinotécan chez les patients chez lesquels une recherche de déficit en UGT1A1 a été effectuée était de 23,3% [9,1 – 57,2].

Le pourcentage de différence entre la réduction de dose réalisée et celle recommandée par le biologiste (0% ou 30% selon le génotype) avait une valeur médiane de + 20% [-30 - +57]. La moyenne était de +15,9% ± 23.

Tableau XV : Pourcentage moyen de réduction de dose de l'irinotécan en fonction de la survenue de toxicités de grade 3-4 et du génotype *UGT1A1*

		Pourcentage moyen de réduction de dose médiane (mini – maxi)
Toxicités de grade 3-4	Présence	20 % [9-24]
	Absence	27 % [17-57]
Génotype <i>UGT1A1</i>	Homozygote <i>UGT1A1</i>*28	23 % [23-23]
	Hétérozygote <i>UGT1A1</i>*28	22 % [9-57]
	Sauvage	Absence de données

Le seul patient ayant un génotype sauvage n'avait aucune réduction de dose d'irinotécan. Il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les différents pourcentages de réduction de dose en fonction de la toxicité de grade 3-4 et du génotype *UGT1A1*.

- Première cure avec réduction de dose

La réduction de dose était effectuée dès la première cure pour 5 patients (56%) et à partir de la troisième cure pour 4 patients. (44%)

- Évolution de la réduction de dose effectuée dans le temps

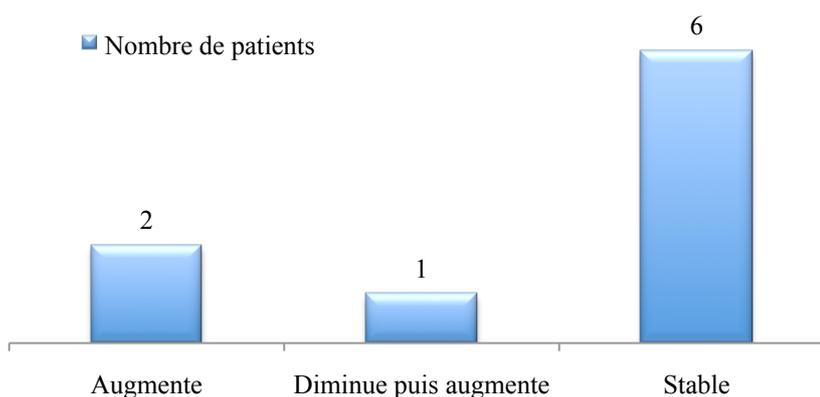


Figure 21 : Évolution de la réduction de dose chez les patients traités par irinotécan

Dans la majorité des cas (67%) la réduction de dose était stable dans le temps.

3. Données prospectives

3.a Caractéristiques de la population

Les tests pharmacogénétiques ont été réalisés chez 76 patients dont 6 n'ont finalement pas été traités par fluoropyrimidines ou irinotécan et n'ont donc pas été inclus dans les analyses statistiques.

Tableau XVI : Caractéristiques de la population de l'étude prospective

Caractéristiques		n = 70	%
Sexe	Masculin	37	52,9%
	Féminin	33	47,1%
Âge (années)	médiane (mini-maxi)	62,5 [39 – 86]	
Surface corporelle (m ²)		1,8 [1,3 – 2,1]	
IMC (kg.m ⁻²)		23,4 [17,1 – 35,8]	
Albuminémie (Normales : 35 – 50 g. L ⁻¹) n = 65		50,0 [22,0 – 87,0]	
Clairance MDRD (mL/min/1,73m ²)		91,3 [26,5 – 199,9]	
Score PS n = 65	0	33	50,8%
	1	29	44,6%
	2	3	4,6%
	3	0	0%
	4	0	0%
Antécédents	Cardiovasculaires	27	38,6%
	Neurologiques	0	0%
	Métaboliques	14	20%
	Rénaux	2	2,9%
	Hépatiques	3	4,3%
Pathologie	Côlon	43	61,4%
	Duodénum	1	1,4%
	Estomac	8	11,4%
	Pancréas	3	4,3%
	Rectum	10	14,3%
	Oesophage	3	4,3%
	Voies biliaires	2	2,9%
Molécules reçues	5-FU	59	84,3%
	Capécitabine	13	18,6%
	Irinotécan	11	15,7%
Type de traitement	Adjuvant	35	50%
	Métastatique	24	34,3%
	Néo-adjuvant	9	12,9%
	Association à la RT	2	2,9%

À la date du 30 Juin 2016, deux des patients étaient décédés.

Tous les patients traités par 5-FU ont reçu à la fois un bolus et une perfusion continue de 5-FU.

- Protocoles utilisés

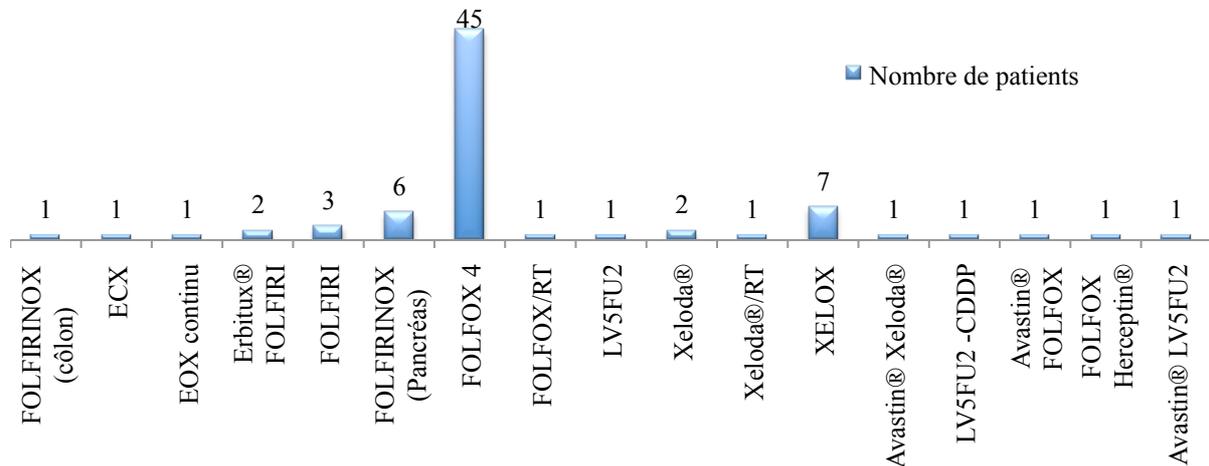


Figure 22 : Protocoles utilisés chez les patients de l'étude prospective

La majorité des patients étaient traités avec une association de fluoropyrimidines avec de l'oxaliplatine (82,9%).

Aucun patient n'a été traité par aflibercept. 2 patients (2,9 %) ont reçu du panitumumab, 8 patients (11,4 %) du bévacizumab et 2 patients (2,9%) du cétuximab.

Tous les patients ayant reçu de irinotécan étaient traités par un protocole l'associant au 5-FU. 6 patients de Toulouse ont été traités par deux protocoles de chimiothérapies différents.

2 patients ont été traités à la fois par du 5-FU et de la capécitabine.

3.b Résultats des tests pharmacogénétiques

- Génotypes *DPYD* et phénotypes DPD

Tableau XVII : Génotypes *DPYD* et phénotypes DPD retrouvés chez les patients de l'étude prospective

Résultats		n = 42	%
Génotype <i>DPYD</i>	Homozygote <i>DPYD*2A</i>	0	0%
	Hétérozygote <i>DPYD*2A</i>	2	4,8%
	Homozygote <i>DPYD*13</i>	0	0%
	Hétérozygote <i>DPYD*13</i>	1	2,4%
	Sauvage	39	92,8%
Résultats	Rapport UH2/U	n = 67	%
Phénotype DPD	UH2/U < 6	8	11,9%
	UH2/U ≥ 6	59	88,1%
	UH2/U Valeur médiane (mini – maxi)	10,6 [3,4 – 21,8]	

Certains patients ont seulement fait l'objet d'un phénotypage de la DPD, leur génotype *DPYD* n'a pas été déterminé. On ne peut donc pas comparer les proportions de patients présentant un déficit en DPD entre les deux groupes.

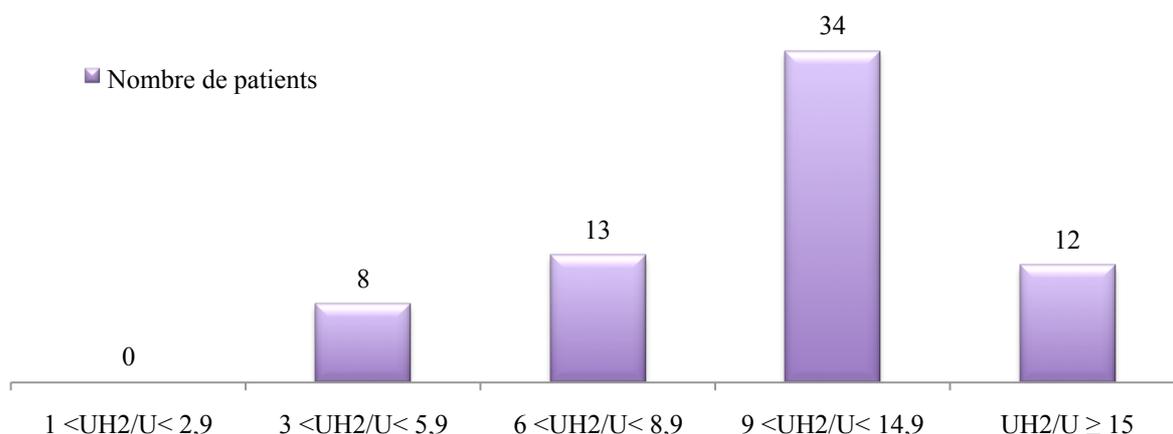


Figure 23 : Distribution du rapport UH2/U selon différentes classes chez les patients traités par fluoropyrimidines (n=67)

La majorité des patients (50,7%) avaient un rapport UH2/U situé entre 9 et 14,9.

Tableau XVIII : Génotypes *UGT1A1* retrouvés chez les patients de l'étude prospective

Résultats		n = 24	%
Génotype <i>UGT1A1</i>	Homozygote <i>UGT1A1*28</i>	3	12,5 %
	Hétérozygote <i>UGT1A1*28</i>	10	41,7 %
	Sauvage	11	45,8 %

La majorité des patients de l'étude possédaient un génotype sauvage pour le gène *UGT1A1*. Seuls 11 de ces patients ont finalement reçu de l'irinotécan.

3.c Toxicités

- Survenue de toxicités de grade 1-2 et de grade 3-4

61 patients (87,1%) ont présenté une toxicité de grade 1-2 et 12 patients (17,1%) une toxicité de grade 3-4.

- Délai d'apparition de la toxicité

Parmi les 61 patients ayant présenté une toxicité de grade 1-2, 55 patients (90,2%) ont présenté cette toxicité dès la première cure et 6 patients (9,8%) après la deuxième cure.

Parmi les 12 patients ayant présenté une toxicité de grade 3-4, l'apparition de la toxicité était répartie de la façon suivante :

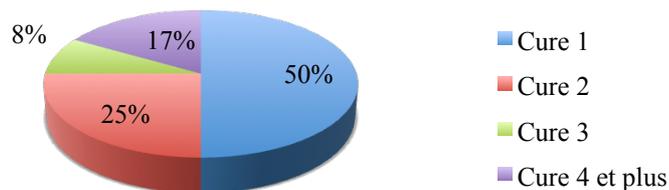


Figure 24 : Délai d'apparition de la toxicité de grade 3-4 dans l'étude prospective

- Association entre les génotypes *DPYD* et *UGT1A1* et la survenue de toxicités de grade 3-4

Aucune association significative entre la survenue de toxicités de grade 3-4 et les génotypes *DPYD* et *UGT1A1* n'a été retrouvée.

- Association entre le phénotype de la DPD (rapport UH2/U) et la survenue de toxicités de grade 3-4

Aucune association significative entre la survenue de toxicités de grade 3-4 ou de grade 1-2 et l'activité enzymatique de la DPD n'a été retrouvée.

- Association entre la survenue de toxicités de grade 3-4 et différents facteurs

Aucune association significative n'a été retrouvée entre la survenue de toxicités de grade 3-4 et le sexe, l'âge, le score PS, la surface corporelle, l'IMC, l'albuminémie, la clairance MDRD, le type de traitement, le protocole, les antécédents, l'utilisation d'une thérapie ciblée, la molécule utilisée.

Une association significative a été retrouvée entre la survenue de toxicités de grade 3-4 et la pathologie ($p = 0,001$), ainsi qu'entre la survenue de toxicités de grade 3-4 et les antécédents métaboliques ($p = 0,0457$).

3.d Réductions de doses

- Réductions de doses du bolus et de la perfusion continue de 5-FU, de l'irinotécan et de la capécitabine

Tableau XIX : Pourcentage moyen de réduction de dose et pourcentage de cures réalisées avec une réduction de dose dans l'étude prospective

		Bolus 5-FU	Perfusion continue 5-FU	Capécitabine	Irinotécan
% moyen de réduction de dose	médiane (mini-maxi)	42,9% [6,3-91,7]	28,3% [6-45]	25% [0-45]	24% [23,3-25]
	Moyenne \pm écart type	45,8% \pm 23,3	26,2% \pm 13,1	30,8% \pm 10,9	24,1% \pm 0,8
% de cures avec réduction de dose moyenne/écart type		16,7% \pm 30,8	16,4% \pm 31,4	21,9% \pm 33,6	28,5% \pm 48,8

Le pourcentage moyen de réduction de dose du bolus de 5-FU était significativement plus élevé que celui de la perfusion continue ($p=0,0049$).

Il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les pourcentages de cures réalisées avec une réduction de dose des différentes molécules.

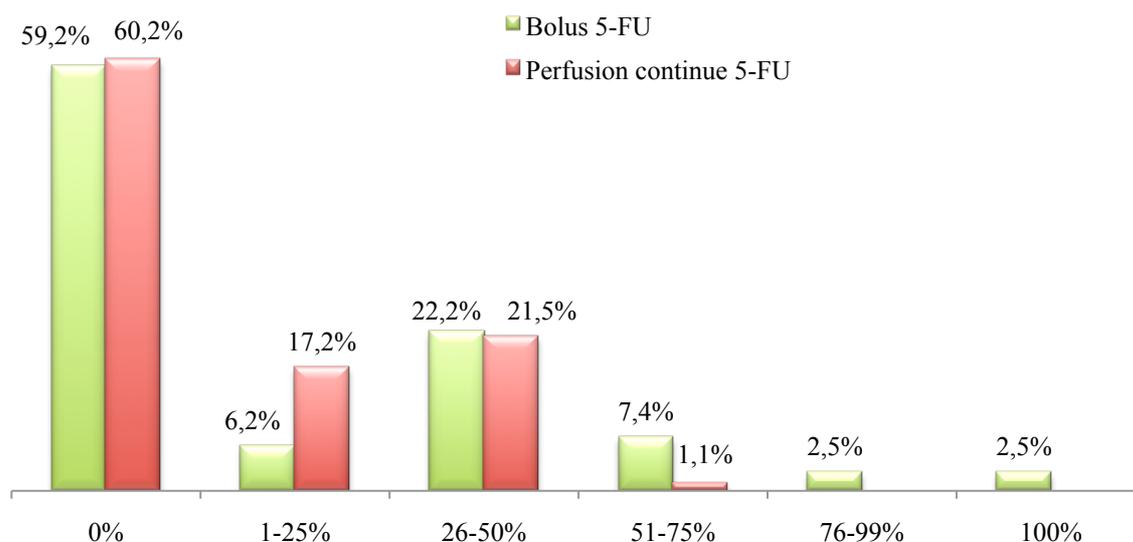


Figure 25 : Pourcentage moyen de réduction de la dose du bolus ou de la perfusion continue de 5-FU dans l'étude prospective

- Réductions de doses effectuées chez les patients en fonction de l'apparition de toxicités de grade 3-4 et des résultats pharmacogénétiques

Tableau XX : Pourcentage moyen de réduction de dose en fonction des toxicités de grade 3-4

		Pourcentage moyen de réduction de dose médiane (mini-maxi)			
		Bolus de 5-FU	Perfusion continue de 5-FU	Capécitabine	Irinotécan
Toxicités de grade 3-4	Présence	55 % [30-80]	28 % [13-45]	Absence de données	24 % [23-25]
	Absence	30 % [6-92]	28 % [6-45]	25% [0-45]	Absence de données

Il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les différents pourcentages moyens de réductions de dose, en présence ou en l'absence de toxicités de grade 3-4.

Tableau XXI : Pourcentage moyen de réduction de dose des fluoropyrimidines en fonction du génotype *DPYD* et du phénotype DPD

		Pourcentage moyen de réduction de dose médiane (mini-maxi)		
		Bolus de 5-FU	Perfusion continue de 5-FU	Capécitabine
Génotype <i>DPYD</i>	Hétérozygote <i>DPYD*2A</i>	80% (n=1)	18% (n=1)	45% (n=1)
	Hétérozygote <i>DPYD*13</i>	61% (n=1)	32% (n=1)	Absence de données
	Sauvage	44% [30-92]	30% [6-45]	25% [0-33]
Phénotype UH2/U	3 <UH2/U< 5,9	50% [38-92]	38% [18-45]	45% (n=1)
	6 <UH2/U< 8,9	44% [28-61]	22% [12-32]	33% (n=1)
	9 <UH2/U< 14,9	38% [17-67]	22% [6-43]	20% [0-25]
	UH2/U ≥ 15	30% [6-67]	18% [6-30]	Absence de données

Chez les patients ayant un génotype *DPYD* sauvage, la réduction de dose moyenne du bolus était significativement supérieure à celle de la perfusion continue ($p= 0,0179$).

L'effectif étant limité pour les patients hétérozygotes *DPYD*2A* et *DPYD*13*, on ne peut établir de différence significative entre les réductions de doses.

Il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les réductions de doses moyennes selon la classe UH2/U, à la fois pour le bolus et la perfusion continue de 5-FU.

Tableau XXII : Pourcentage moyen de réduction de dose de l'irinotécan en fonction du génotype *UGT1A1*

		Pourcentage moyen de réduction de dose médiane (mini-maxi)
Génotype <i>UGT1A1</i>	Homozygote <i>UGT1A1*28</i>	25% [24-25]
	Hétérozygote <i>UGT1A1*28</i>	Absence de données
	Sauvage	23 %

Aucun des patients hétérozygotes *UGT1A1*28* n'a eu de réduction de dose.

- Première cure réalisée avec une réduction de dose

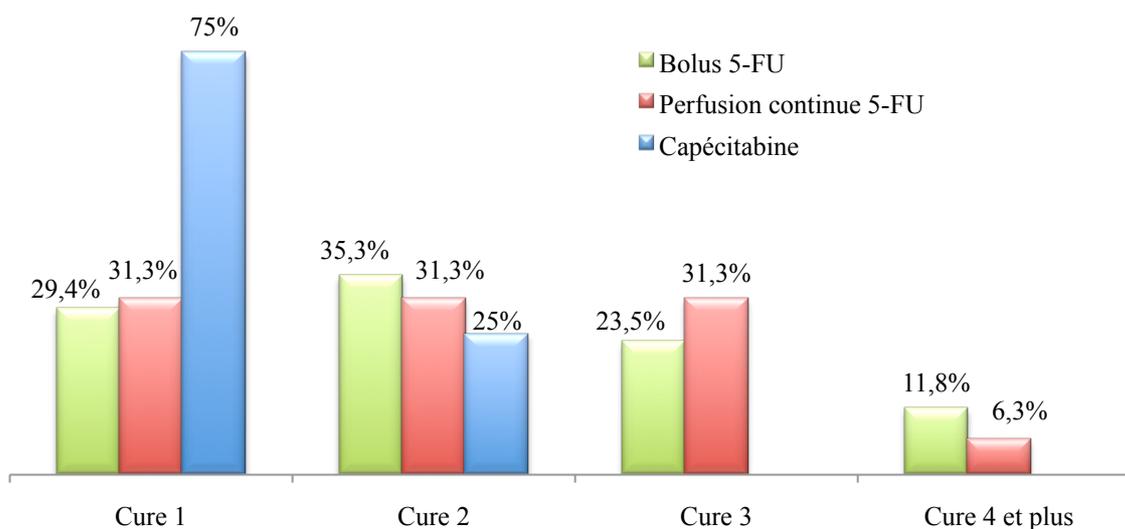


Figure 26 : Première cure réalisée avec une réduction de dose chez les patients traités par fluoropyrimidines

La réduction de dose débutait de façon équivalente à la première, la deuxième ou la troisième cure pour le bolus et la perfusion continue de 5-FU.

Pour la capécitabine, l'effectif étant faible, les résultats sont peu représentatifs.

Pour l'irinotécan, chez les 3 patients ayant eu des réductions de doses, celles-ci ont commencé dès la deuxième cure.

- Évolution de la réduction de dose dans le temps

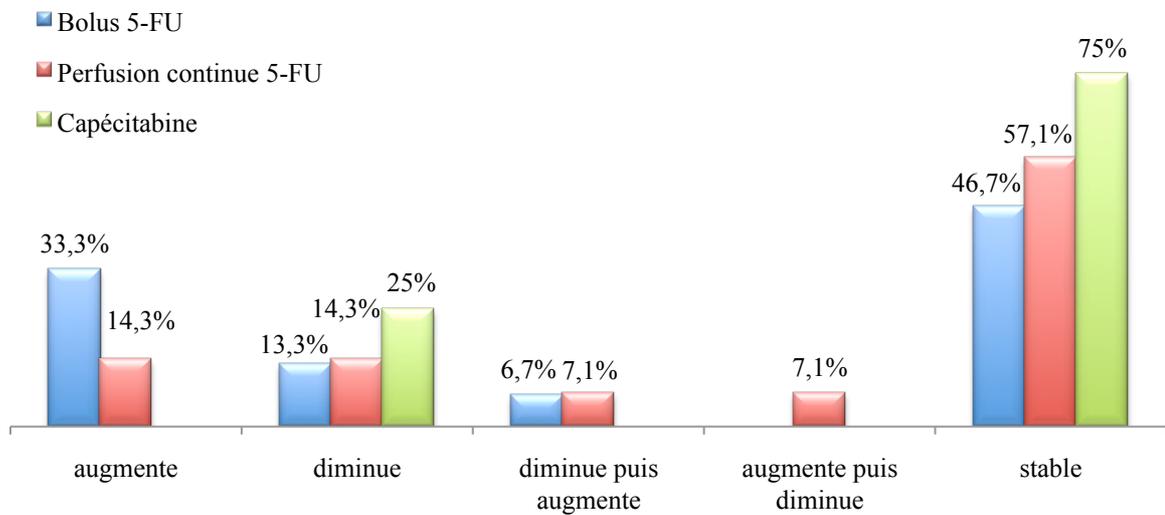


Figure 27 : Évolution de la réduction de dose chez les patients traités par fluoropyrimidines

Dans la majorité des cas, à la fois pour le bolus et la perfusion continue la réduction de dose restait stable dans le temps. La réduction de dose ne diminuait que dans 13,3% des cas pour le bolus et dans 14,3% pour la perfusion continue de 5-FU.

Chez un des patients, la dose de capécitabine a été réaugmentée, contrairement aux recommandations du RCP.

Concernant l'irinotécan, la réduction de dose restait stable chez 2 patients, et augmentait chez un second.

- Différence entre la réduction de dose réalisée et la réduction de dose recommandée par le biologiste

Tableau XXIII : Pourcentage de différence entre la réduction de dose réalisée et la réduction de dose recommandée par le biologiste dans l'étude prospective

	Bolus 5-FU	Perfusion continue 5-FU	Capécitabine	Irinotécan
Pourcentage de différence entre la réduction de dose réalisée et la réduction de dose recommandée moyenne / écart type	+ 6,7% ± 21,2	+ 0,7% ± 15,0	+ 1,8% ± 51,2	+ 41,2% ± 19,6

En moyenne les réductions de doses réalisées étaient supérieures à la réduction de dose recommandée, en particulier pour l'irinotécan.

Il n'a pas été retrouvé de différence significative entre la différence de réduction de dose réelle et recommandée du bolus de 5-FU et de la perfusion continue.

4. Comparaison des données rétrospectives et prospectives

- Comparaison des données de pharmacogénétique

Tableau XXIV : Comparaison des génotypes *DPYD* et *UGT1A1* entre les populations de l'étude rétrospective et prospective

Résultats		Rétrospectif	Prospectif	p
Génotype <i>DPYD</i>	Homozygote <i>DPYD</i> *2A	0 (0%)	0 (0%)	Non significatif
	Hétérozygote <i>DPYD</i> *2A	3 (8,1%)	2 (4,8%)	
	Homozygote <i>DPYD</i> *13	0 (0%)	0 (0%)	
	Hétérozygote <i>DPYD</i> *13	0 (0%)	1 (2,4%)	
	Sauvage	34 (91,9%)	39 (92,8%)	
Génotype <i>UGT1A1</i>	Homozygote <i>UGT1A1</i> *28	2 (18,2%)	3 (12,5%)	p = 0,0491
	Hétérozygote <i>UGT1A1</i> *28	8 (72,7%)	10 (41,7%)	
	Sauvage	1 (9,1%)	11 (45,8%)	

On n'a observé aucune différence significative entre les proportions de génotypes *DPYD* entre les patients de l'étude rétrospective et prospective.

Cependant on a observé une différence significative entre les deux populations pour le génotype *UGT1A1*.

Tableau XXV : Comparaison du phénotype DPD entre les populations de l'étude rétrospective et prospective

	Rapport UH2/U	Rétrospectif	Prospectif	p
Phénotype DPD	UH2/U <6	8 (21,6%)	8 (11,9%)	Non significatif
	UH2/U ≥ 6	29 (78,4%)	59 (88,1%)	
	1 <UH2/U< 2,9	1 (3,1%)	0 (0%)	Non significatif
	3 <UH2/U< 5,9	7 (21,8%)	8 (11,9%)	
	6 <UH2/U< 8,9	6 (18,8%)	13 (19,4%)	
	9 <UH2/U< 14,9	15 (46,9%)	34 (50,7%)	
UH2/U ≥ 15	3 (9,4%)	12 (17,9%)		

Aucune différence significative n'a été observée entre les proportions de phénotypes DPD des patients de l'étude rétrospective et prospective, ni entre les valeurs moyennes du rapport UH2/U des deux populations.

- Comparaison de la survenue de toxicités de grades 1-2 et 3-4

Tableau XXVI : Comparaison de la survenue de toxicités de grade 1-2 et de grade 3-4 entre les populations de l'étude rétrospective et prospective

Toxicités		Rétrospectif	Prospectif	p
Toxicités de grade 1-2	Oui	27	61	p = 0,0077
	Non	21	9	
Toxicités de grade 3-4	Oui	26	12	p < 0,0001
	Non	22	58	

On observe que les patients de l'étude rétrospective avaient de façon significative plus de toxicités de grade 3-4 et moins de toxicités de grade 1-2 que les patients de l'étude prospective.

- Comparaison des réductions de doses

Il n'a pas été observé de différence significative entre les pourcentages moyens de réduction de dose entre les deux populations pour les différents types de traitement.

Il n'a pas été observé non plus de différences significatives entre les évolutions des réductions de doses pour le bolus, la perfusion continue de 5-FU, ou l'irinotécan.

Concernant les réductions de doses de la capécitabine, les effectifs étaient trop faibles pour effectuer cette comparaison.

Tableau XXVII : Comparaison du pourcentage de cures réalisées avec une réduction de dose

		Rétrospectif	Prospectif	p
Pourcentage de cures avec réduction de dose	Bolus de 5-FU	44,8%	16,7%	p = 0,0167
	Perfusion continue de 5-FU	39,9%	16,4%	p=0,0294

Il y avait significativement moins de cures réalisées avec une réduction de dose dans l'étude prospective, à la fois pour le bolus et la perfusion continue de 5-FU.

Concernant l'irinotécan et la capécitabine, les effectifs trop faibles ne nous permettent pas de conclure.

Il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les pourcentages de différences entre la réduction de dose réelle et celle recommandée par le biologiste entre les deux études.

VIII. Discussion

1. Interprétation des résultats

1.a Données rétrospectives des recherches de déficit en DPD

- Caractéristiques de population

On observe que les recherches de déficit en DPD ont été réalisées chez des patients traités par de nombreux protocoles différents. Les fluoropyrimidines étaient utilisées à des doses théoriques différentes et en association avec de nombreuses molécules différentes. Il n'a pas été retrouvé d'association significative entre les protocoles utilisés et l'apparition d'une toxicité de grade 3-4. Cependant il a été retrouvé une association significative entre la dose théorique de la perfusion continue de 5-FU et la survenue d'une toxicité de grade 3-4.

La grande majorité des patients (91,9%) avaient un génotype sauvage et seuls 3 patients (8,1%) étaient hétérozygotes *DPYD*2A*, ce qui reste une fréquence supérieure à celle des déficits partiels retrouvés dans la population générale (3 à 5%).

Il n'a pas été retrouvé d'association significative entre le génotype et l'apparition de toxicités de grade 3-4. Ce résultat est en partie dû au faible effectif de l'étude, mais il nous montre également que d'autres facteurs, liés au patient ou au traitement, pourraient expliquer l'apparition de ces toxicités.

Alors que 8% des patients possédaient une variation génotypique, 21,6% avaient un rapport $UH2/U < 6$, suggérant que malgré l'absence de SNPs retrouvés, l'activité enzymatique de la DPD était diminuée. Ceci nous montre la complexité des liens existant entre le génotype *DPYD* et le phénotype DPD.

- Toxicités

Les toxicités sont apparues de manière précoce, principalement après la première ou la deuxième cure. Les principales toxicités de grade 3-4 retrouvées étaient des neutropénies et des diarrhées, conformément aux données de la littérature. Ces toxicités pouvant avoir des conséquences graves, et mettre en jeu le pronostic vital des patients.

Seuls 59% des patients pour lesquels une recherche de déficit en DPD avait été réalisée avaient réellement présenté une toxicité de grade 3-4. Chez les autres patients (41%), la recherche avait été réalisée en prévention, chez des patients fragiles ou âgés.

La majorité des patients de l'étude avaient une activité enzymatique non diminuée, avec un rapport $UH2/U \geq 6$. Il n'a pas été retrouvé d'association significative entre le rapport $UH2/U$ et la survenue de toxicités de grade 3-4. Cependant, on peut signaler que tous les patients

ayant un rapport UH2/U inférieur à 6 ont présenté une toxicité de grade 3-4 durant leur traitement.

- Réductions de doses

Le pourcentage moyen de réduction de dose du bolus de 5-FU (46,1%) était supérieur à celui de la perfusion continue. Concernant le bolus de 5-FU, la majorité des réductions de doses effectuées se situait entre 26 et 50%. La majorité des patients (38,2%) traités par perfusion continue de 5-FU n'ont pas eu de réduction de dose. 9,1% n'ont pas reçu le bolus de 5-FU prévu dans leur protocole de traitement.

Les doses de bolus étaient donc plus intensément réduites que celles de la perfusion continue de 5-FU.

Bien que les toxicités apparaissaient dès les premières cures, les réductions de doses étaient en général assez tardives, avec dans plus d'un tiers des cas des adaptations de doses après la quatrième cure de traitement.

Dans la majorité des cas, on a observé une diminution de la réduction de dose avec le temps (42,3% pour le bolus de 5-FU, 31,6% pour la perfusion continue), en général après réception des résultats négatifs de recherche de déficit en DPD, ou une stabilité de celle-ci (respectivement 28,6% et 26,3%). Cependant, la réduction de dose était tout de même augmentée dans 21,1% des cas pour la perfusion continue et dans 7,1% des cas pour le bolus de 5-FU, indiquant que la réduction de dose initiale n'était pas suffisante.

Il n'a pas été retrouvé d'association significative entre les réductions de dose moyennes du bolus et de la perfusion continue de 5-FU et la survenue de toxicités de grade 3-4, ni entre les réductions de dose moyennes et le génotype *DPYD* ou le rapport UH2/U. On peut donc dire que les adaptations de doses étaient liées à d'autres facteurs que la survenue d'une toxicité sévère ou l'existence d'un déficit enzymatique.

On observe que malgré l'absence de toxicités de grade 3-4, les patients étaient traités avec des doses réduites. Cela peut s'expliquer d'une part par l'âge ou la fragilité des patients, d'autre part par la survenue de toxicités de grade 1-2 mais gênantes ou à risque pour le patient.

La différence entre la réduction de dose réalisée et la réduction de dose recommandée par le biologiste pour le bolus de 5-FU (+25,8%) était significativement supérieure à celle de la perfusion continue (+8,7%). Les doses de bolus de 5-FU étaient donc plus diminuées que les doses de perfusion continue, par rapport aux recommandations de réductions de doses. Cela pose la question des recommandations d'adaptations de doses actuelles des fluoropyrimidines

qui ne prennent pas en compte leurs différentes modalités d'administration et leurs différences de toxicités.

1.b Données rétrospectives des recherches de déficit en UGT1A1

- Caractéristiques de population

35,3% des patients chez lesquels on a recherché un déficit en UGT1A1 n'avaient en réalité pas reçu de traitement par irinotécan. Cela peut s'expliquer d'une part par le fait qu'une recherche de déficit en UGT1A1 a été demandée en même temps que la recherche de déficit en DPD alors que les patients devaient recevoir uniquement une fluoropyrimidine. D'autre part, certains patients n'ont finalement reçu aucune chimiothérapie. Pour certains patients, on peut se poser la question de savoir si les résultats pharmacogénétiques peuvent avoir motivé le médecin à ne pas traiter le patient avec de l'irinotécan.

Quasiment tous les patients ayant fait l'objet d'une recherche de déficit en UGT1A1 et ayant reçu une chimiothérapie (81,8%) étaient traités avec de l'irinotécan en association avec du 5-FU.

La majorité des patients (90,9%) de l'étude rétrospective étaient soit hétérozygotes, soit homozygotes pour l'allèle *UGT1A1**28, avec une fréquence de patients hétérozygotes (72,7%) supérieure à celle retrouvée dans la population caucasienne (40 à 50%).

- Toxicités

Les principales toxicités de grade 3-4 retrouvées étaient les nausées et vomissements (18%) et les diarrhées (18%), suivies des neutropénies (9%), conformément aux données de la littérature.

Les toxicités apparaissaient majoritairement en début de traitement, après la première cure (54,5%) ou la deuxième (18,2%).

Étant donné que l'échantillon de population était assez faible, il n'a pas été retrouvé d'association significative entre l'apparition de toxicités de grade 3-4 et différents facteurs physiologiques et thérapeutiques.

Seuls 36% des patients ont fait l'objet d'une recherche de déficit en UGT1A1 après l'apparition d'une toxicité, suggérant que dans la plupart des cas les médecins prescrivent cette recherche de manière préventive.

- Réductions de doses

En moyenne, plus de la moitié des cures (61,1%) étaient réalisées avec une réduction de dose, et en majorité, la réduction était réalisée dès la première cure (56%).

Ces cures étaient réalisées avec une réduction de dose moyenne ayant une valeur médiane de 23,3% et la réduction de dose était en moyenne supérieure de 15,9% par rapport à la réduction de dose recommandée par le biologiste. Dans la majorité des cas (67%), la réduction de dose était stable dans le temps.

Il n'a pas été retrouvé d'association significative entre la réduction de dose moyenne et le génotype des patients, ni entre la réduction de dose moyenne et la survenue ou non de toxicités de grade 3-4, contrairement à ce qui était attendu. La réduction de dose effectuée par le médecin dépendrait donc d'autres facteurs que les toxicités sévères tels que l'âge, l'altération de l'état général ou la survenue de toxicités moins sévères mais ayant un retentissement important pour le patient.

1.c Données prospectives

- Caractéristiques de population

Concernant le gène *DPYD*, seulement 3 patients de l'étude (soit 0,1% des génotypes effectués) présentaient un SNP (2 hétérozygotes pour le *DPYD*2A* et 1 hétérozygote pour le *DPYD*13*). Cette proportion est inférieure à la fréquence des déficits partiels en DPD dans la population générale (3-5%).

Les rapports UH2/U, étaient très variables allant de 3,4 à 21,8. La majorité des patients (88,1%) avait un rapport ≥ 6 , donc une activité de la DPD n'étant pas susceptible d'entraîner des toxicités.

Concernant le gène *UGT1A1*, 41,7% des patients étaient hétérozygotes *UGT1A1*28* et 12,5% homozygotes *UGT1A1*28*, correspondant aux fréquences retrouvées dans la population caucasienne (40 à 50% d'hétérozygotes et 8 à 20% d'homozygotes).

- Toxicités

17,1% des patients traités ont présenté une toxicité de grade 3-4 et 87,1% une toxicité de grade 1-2.

Dans 50% des cas, la toxicité de grade 3-4 survenait dès la première cure, dans 25% des cas après la deuxième cure.

Il n'a pas été retrouvé d'association significative entre les différents génotypes et phénotypes et la survenue de toxicités de grade 3-4. Cela peut s'expliquer d'une part par le faible effectif,

et notamment le faible taux de polymorphismes retrouvés pour le gène *DPYD*. D'autre part, les tests de génotypages possèdent une spécificité élevée mais une faible sensibilité, ne pas être porteur d'un SNP ne signifiant pas forcément une bonne tolérance du traitement.

Une association significative a été retrouvée entre la survenue de toxicités de grade 3-4 et la pathologie ($p=0,001$), ceci pouvant s'expliquer par la forte proportion de patients traités pour un cancer du côlon (61,4%). L'association entre la présence d'antécédents métaboliques (diabète, troubles lipidiques) et la survenue de toxicités de grade 3-4 était également significative ($p= 0,0457$).

- Réductions de doses

Le pourcentage moyen de réduction de dose du bolus de 5-FU (45,8%) était significativement plus élevé que celui de la perfusion continue (26,2%).

Chez les patients traités par 5-FU, la majorité des patients n'avaient pas de réduction de dose du bolus ou de la perfusion continue. 22,2% avait une réduction de dose située entre 26 et 50% pour le bolus et 21,5% des patients pour la perfusion continue.

Contrairement à ce qui était attendu, il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les pourcentages moyens de réductions de dose, en présence ou en l'absence de toxicités de grade 3-4 pour le 5-FU. D'autres facteurs, autres que la survenue de toxicités sévères rentrent donc en compte pour expliquer les réductions de doses effectuées, comme par exemple les comorbidités du patient.

Chez les patients ayant un génotype *DPYD* sauvage, la réduction de dose moyenne du bolus de 5-FU était significativement supérieure à celle de la perfusion continue. Il n'est pas possible de conclure concernant les patients possédant un SNP pour ce gène étant donné le faible effectif.

Dans la majorité des cas, à la fois pour le bolus et la perfusion continue la réduction de dose restait stable dans le temps (respectivement 46,7% et 57,1%). La réduction de dose ne diminuait que dans 13,3% des cas pour le bolus et 14,3% pour la perfusion continue de 5-FU. Il n'a pas été recherché d'association significative entre la dose théorique de la perfusion continue de 5-FU et la survenue de toxicités de grade 3-4, contrairement à l'étude rétrospective, étant donné qu'aucun patient n'était traité avec une perfusion continue > 2400 mg/m².

La réduction moyenne de dose chez les patients traités par irinotécan était de 24,1% chez l'ensemble des patients et de 25% chez les patients homozygotes *UGT1A1**28. Elle était en moyenne supérieure de 41,2% à la recommandation du biologiste.

1.d Comparaison des données rétrospectives et prospectives

- Comparaison des tests pharmacogénétiques

Aucune différence significative n'a été observée entre les génotypes *DPYD* et les phénotypes DPD des patients des études rétrospectives et prospective, alors qu'on aurait attendu des proportions de déficits en DPD plus importants dans la population de l'étude rétrospective. Cependant on observe une différence significative ($p = 0,0491$) entre les deux populations concernant le génotype *UGT1A1*, avec une proportion plus importante de patients hétérozygotes et homozygotes *UGT1A1*28* dans l'étude rétrospective.

- Comparaison des toxicités

Les patients de l'étude rétrospective avaient de façon significative plus de toxicités de grade 3-4 que les patients de l'étude prospective. Cela paraît logique étant donné que les recherches de déficits en DPD et *UGT1A1* chez les patients de l'étude rétrospective étaient réalisées en général après la survenue de toxicités de grade 3-4.

Cependant, les patients de l'étude rétrospective n'ayant pas plus d'allèles *DPYD* mutés que dans l'étude prospective, on peut se demander si la survenue de ces toxicités pourrait être due à d'autres facteurs non génétiques ou phénotypiques.

- Comparaison des réductions de doses

Il n'a pas été observé de différence significative entre les pourcentages moyens de réduction de dose entre les deux populations pour les différents types de traitement, alors qu'il y avait plus de toxicités de grade 3-4 dans l'étude rétrospective et des résultats pharmacogénétiques pour la DPD équivalents entre les deux études.

Il n'a pas été observé non plus de différence significative entre les deux populations concernant les évolutions de réductions de doses du bolus, de la perfusion continue de 5-FU ou de l'irinotécan.

Concernant les réductions de doses de la capécitabine, les effectifs étaient trop faibles pour effectuer cette comparaison.

Les patients de l'étude prospective avaient un pourcentage de cures réalisées avec une réduction de dose significativement inférieure à ceux de l'étude rétrospective pour le bolus et la perfusion continue de 5-FU. On peut donc supposer que la réalisation de tests pharmacogénétiques de manière prospective a permis de diminuer le nombre de réductions de doses pour le 5-FU mais pas leur intensité.

2. Limites de l'étude

- Nombre de patients

Le nombre de patients pour lesquels nous avons recueilli des données n'est pas très élevé. Tout d'abord, les données rétrospectives des tests pharmacogénétiques au CHU de Limoges ne sont disponibles qu'à partir d'avril 2015, limitant ainsi le nombre de données disponibles. De plus, plusieurs difficultés d'organisation liées aux prélèvements nécessaires à la réalisation de l'étude prospective et détaillés plus loin, ont limité le nombre de patients pouvant être inclus dans cette étude. En effet, comparativement au nombre de nouveaux patients traités par fluoropyrimidines ou irinotécan au CHU de Limoges, nous n'avons pu réaliser de génotypages et de phénotypages que chez une faible partie d'entre eux. Par ailleurs, certains patients n'ayant pu être prélevés avant le début de leur chimiothérapie ont présenté des toxicités ayant fait l'objet d'une demande de recherche de déficit en DPD ou en UGT1A1 ultérieurement.

Étant donné la faible proportion de déficits en DPD dans la population, il aurait fallu avoir un échantillon plus important afin d'avoir un nombre conséquent de patient déficitaires.

- Diversité des résultats

Notre étude, notamment rétrospective portait sur des patients traités par une multiplicité de pathologies, avec de multiples protocoles. Il serait intéressant de faire une étude plus ciblée, sur un type de pathologie ou un protocole particulier, afin d'avoir des résultats plus intéressants.

- Difficultés liées aux prélèvements

Un des principaux freins de cette étude a été la réalisation de prélèvements sanguins entre 8 et 10 heures du matin. Afin d'avoir les résultats des tests pharmacogénétiques avant de pouvoir commencer la chimiothérapie, le prélèvement sanguin devait se faire à la fin de la consultation d'annonce ou de changement de ligne. Le délai entre la consultation et la venue en hôpital de jour étant d'une semaine à 10 jours, cela correspond au délai de rendu des résultats des génotypages et phénotypages.

Chaque semaine, nous avons relu au CHU de Limoges les comptes-rendus des réunions de concertation pluridisciplinaires afin de déterminer quels patients étaient susceptibles d'être traités par fluoropyrimidines ou irinotécan. Nous avons ensuite fait placer les consultations d'annonce des patients allant recevoir un traitement par fluoropyrimidines durant le créneau horaire de 8 à 10 heures, afin de pouvoir les prélever dès leur sortie de consultation.

Certaines consultations n'ont pu être placées durant ce créneau horaire, les patients n'ont donc pas été prélevés pour réaliser un phénotypage.

Chez certains patients les résultats des tests pharmacogénétiques n'étaient pas disponibles avant de débiter leur chimiothérapie, l'adaptation posologique n'a donc pas pu être réalisée dès la première cure de chimiothérapie.

D'autre part, la prescription de chimiothérapies orales comme la capécitabine se faisant directement à la consultation d'annonce, rend difficile l'obtention des résultats de tests pharmacogénétiques préalablement au début de la prise du médicament par le patient.

- Suivi des patients

Il aurait été intéressant de suivre les patients de l'étude prospective durant une période plus longue, afin d'évaluer l'efficacité des traitements et de voir si les adaptations de doses réalisées avaient un impact sur la réponse à la chimiothérapie.

- Recueil des données rétrospectives

Le recueil des données de toxicités a été réalisé dans les dossiers patients selon les notes prises lors des consultations médicales. Ces données peuvent donc être minimisées car elles ne sont pas forcément signalées par le patient ou notées par le médecin.

3. Perspectives

Bien qu'il soit admis que la réalisation de génotypes ou de phénotypes avant un traitement par fluoropyrimidines ou irinotécan permette d'améliorer sa tolérance en adaptant les doses, on a vu dans ce travail que les patients ayant présenté des toxicités de grade 3-4, ne présentaient pas forcément de déficit en DPD ou en UGT1A1. La réalisation de ces tests de manière préventive, permet donc certainement d'éviter des toxicités sévères mais ne garantit pas l'absence de survenue d'effets indésirables et d'autres causes de toxicité devront être recherchées.

Concernant les déficits en DPD, certaines recommandations se basent uniquement sur la réalisation d'un génotype, d'autres à la fois sur les résultats du génotype et du phénotype. Or, nous avons vu dans ce travail que les patients ayant un rapport UH2/U diminué ne présentaient pas forcément de SNP connu pour le gène *DPYD*. Il semble donc indispensable d'établir des recommandations d'adaptations de doses uniformes, tenant compte à la fois du génotype et du phénotype.

Dans notre travail, il a été mis en évidence des différences de réductions de doses entre les bolus et les perfusions continues de 5-FU. Étant donné leurs profils de toxicités différents, il serait intéressant d'avoir des recommandations d'adaptations de doses plus précises, adaptées à la pratique clinique en différenciant les modes d'administration des fluoropyrimidines. De plus, les doses de 5-FU sont très variables selon les protocoles, en particulier la dose de perfusion continue. La survenue de toxicités de grade 3-4 étant plus importante avec des doses de perfusion continue supérieures à 2400 mg/m², les réductions de doses devront être différentes d'un protocole à l'autre.

Contrairement à l'irinotécan, le 5-FU est utilisé dans de très nombreux protocoles, à des doses très variables et en association à de nombreuses molécules différentes aux profils de toxicités variés. Ces nombreuses variables compliquent d'autant plus la prise en charge des patients déficitaires en DPD et nécessitent d'individualiser les adaptations de doses en fonction du traitement du patient.

De plus, il est essentiel de rappeler qu'il convient d'augmenter progressivement les doses du traitement en cas de bonne tolérance, afin de ne pas diminuer son efficacité.

À l'heure actuelle, nous évoluons progressivement vers la recommandation de réaliser des tests pharmacogénétiques préalablement à l'initiation des traitements. Plusieurs études médico-économiques (98) (127) ont d'ailleurs montré l'intérêt de ces résultats préventifs, limitant les toxicités et les coûts d'hospitalisation. Cependant, se pose la question de mise en œuvre de ces tests pharmacogénétiques. On a vu dans ce travail les difficultés rencontrées concernant l'organisation de la réalisation des prélèvements, notamment pour les demandes de phénotypage. Ces contraintes (horaires précis de prélèvement ou signature d'un consentement par le patient), pourraient dans l'avenir être un frein à la réalisation de ces tests pharmacogénétiques de manière préventive. L'étude « FUSAFE » actuellement en cours au niveau national nous permettra sûrement d'en savoir plus sur les attentes des médecins et des biologistes en ce qui concerne les recherches de déficit en DPD.

Concernant l'irinotécan, qui est utilisé essentiellement dans le traitement du cancer colorectal métastatique, donc chez des patients supposés plus fragiles que ceux recevant un traitement adjuvant, on a vu que la réalisation des tests pharmacogénétiques se fait déjà largement de manière préventive. La faible variabilité des protocoles dans lesquels il est utilisé et son unique mode d'administration, facilitent d'autant plus la réalisation d'adaptations de doses. De plus, l'absence de contraintes horaires concernant la réalisation des prélèvements destinés

au génotypage, permet d'envisager plus facilement leur mise en place de manière systématique.

Conclusion

L'objectif de ce travail était d'analyser les pratiques des recherches de déficits en DPD et en UGT1A1 au CHU de Limoges, notamment en terme d'adaptations de doses et de comparer ces données avec la réalisation de tests pharmacogénétiques réalisés de manière préventive au CHU de Limoges et à l'IUCT Oncopole.

Concernant les fluoropyrimidines, nous avons mis en évidence :

- des différences entre les génotypes *DPYD* et les phénotypes DPD retrouvés chez les mêmes patients, ainsi que des difficultés liées aux horaires de prélèvements destinés à la réalisation des phénotypages,
- des réductions de doses plus importantes pour le bolus que pour la perfusion continue de 5-FU, supérieures à celles recommandées par le biologiste et en général stables dans le temps,
- des survenues de toxicités plus importantes chez les patients traités avec de fortes doses de perfusion continue de 5-FU,
- dans l'étude prospective, une diminution du nombre de cures réalisées avec une réduction de dose par rapport à l'étude rétrospective, pour le bolus et la perfusion continue de 5-FU.

Ces différents éléments vont dans le sens d'une part de l'utilisation de recommandations d'adaptations de doses des fluoropyrimidines tenant compte à la fois du génotype et du phénotype. D'autre part, les réductions de doses pourraient être adaptées aux différentes modalités d'administration de ces molécules et à la dose protocolaire de 5-FU.

De plus, les adaptations de doses doivent toujours être adaptées en fonction de la tolérance, car d'autres facteurs peuvent expliquer l'apparition des toxicités.

Concernant l'irinotécan, nous avons montré :

- que les recherches de déficits en UGT1A1 étaient principalement menées de manière préventive dans l'étude rétrospective, avec une forte proportion de patients hétérozygotes et homozygotes *UGT1A1**28 par rapport à l'étude prospective
- une forte proportion de cures réalisées avec une réduction de dose dans l'étude rétrospective, même en l'absence de déficit en UGT1A1, ainsi qu'une réduction de dose moyenne supérieure à celle recommandée par le biologiste en particulier dans l'étude prospective

La forte proportion de déficits en UGT1A1 dans la population générale incite les médecins à rechercher des variations de ce gène de manière préventive afin de limiter les toxicités, notamment chez des patients déjà fragiles. De plus, la faible variabilité des protocoles de traitement facilite le suivi des recommandations de réductions de doses, même si celles-ci ne semblent pas toujours suffisantes.

Ce travail nous a permis de faire le point sur les pratiques actuelles au CHU de Limoges concernant les recherches de déficit en DPD et en UGT1A1 et de fixer des points d'amélioration pour la prise en charge thérapeutique des patients.

Même si la généralisation de la réalisation de génotypages et phénotypages de manière pré-thérapeutique paraît intéressante pour diminuer les toxicités, elle nécessite encore à l'heure actuelle certains aménagements afin de faciliter la réalisation des prélèvements.

Bibliographie

1. Réseau National de Pharmacogénétique. Dépistage du déficit en dihydropyrimidinedehydrogénase (DPD) et sécurisation des chimiothérapies à base de 5FU (fluorouracile®) ou de capécitabine (Xéloa®). [Internet] 2016. Available from : http://www.unicancer.fr/sites/default/files/guidelines_gpco-unicancer_dpd_et_fluoropyrimidines.pdf
2. Boisdron-Celle M, Morel A, Gamelin E., et al., Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and toxicity to fluoropyrimidine. *Ann Biol Clin.* 2010. 68: pp.27–32.
3. Boyer J, Etienne-Grimaldi M, Thomas F., et al., Interest of UGT1A1 genotyping within digestive cancers treatment by irinotecan. *Bull Cancer.* 2014. 101: pp.533–53.
4. Diasio R, Harris B. Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. *Clin Pharmacokinet.* 1989. 16: pp.215–37.
5. Aparicio T, Ducreux M, Chaussade S., et al., 5-Fluorouracile : données sur le métabolisme et place actuelle dans le traitement des cancers digestifs. *Gastroenterol Clin Biol.* 2002. 26: pp.38–47.
6. Wohlhueter R, McIvor R, Plagemann P., et al., Facilitated transport of uracil and 5-fluorouracil, and permeation of orotic acid into cultured mammalian cells. *J Cell Physiol.* 1980. 104: pp.309–19.
7. Armstrong R, Lewis M, Stern S, et al., Acute effect of 5-fluorouracil on cytoplasmic and nuclear dihydrofolate reductase messenger RNA metabolism. *J Biol Chem.* 1986. 261: pp.7366–71.
8. Schuetz J, Collins J, Wallace H., et al., Alteration of the secondary structure of newly synthesized DNA from murine bone marrow cells by 5-fluorouracil. *Cancer Res.* 1986. 46: pp.119–23.
9. De Gramont, A, Figuer A, Seymour M., et al., Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2000. 18: pp.2938–47.
10. Heggie G, Sommadossi J, Cross D., et al., Clinical pharmacokinetics of 5-fluorouracil and its metabolites in plasma, urine and bile. *Cancer Res.* 1987. 47: pp.2203–6.
11. Fink R, McGaughey C, Cline R., et al., Metabolism of intermediate pyrimidine reduction products in vitro. *J Biol Chem.* 1956. 218: pp.1–7.
12. Caravaca J, Grisolia S. Enzymatic decarboxylation of carbamyl- β -alanine and carbamyl- β -aminoisobutyric acid. *J Biol Chem.* 1958. 231: pp.357–65.
13. Koenig H, Patel A. Biochemical basis of the acute cerebellar syndrome in 5-fluorouracil chemotherapy. *Trans Am Neurol Assoc.* 1969. 94: pp.290–2.

14. Sweeny D, Barnes S, Heggie G., et al., Metabolism of 5-fluorouracil to an N-cholyl-2-fluoro- β -alanine conjugate : previously unrecognized role for bile acids in drug conjugation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987. 84: pp.5439–43.
15. Sweeny D, Martin M, Diasio R., et al., N-chenodeoxycholyl-2-fluoro- β -alanine : a biliary metabolite of 5-fluorouracil in humans. *Drug Metab Dispos*. 1988. 16: pp.892–4.
16. Vidal Hoptimal. Résumé des caractéristiques produits du 5-Fluorouracile. Version du 18 Janvier 2016.
17. Chirstophidis N, Vajda F, Lucas I., et al., Fluorouracil therapy in patients with carcinoma of the large bowel : a pharmacokinetic comparison of various rates and routes of administration. *Clin Pharmacokinet*. 1978. 3: pp.330–6.
18. Petit E, Milano G, Lévi F., et al., Circadian rhythm-varying plasma concentration of 5-fluorouracil during a five-day continuous venous infusion at a constant rate in cancer patients. *Cancer Res*. 1988. 48: pp.1676–9.
19. Davis L, Lenkinski R, Shinkwin M. et al., The effect of dietary protein depletion on hepatic 5-fluorouracil metabolism. *Cancer*. 1993. 72: pp.3715–22.
20. Fleming R, Milano G, Etienne M., et al., No effect of dose, hepatic function, or nutritional status on 5-FU clearance following continuous (5-day), 5-FU infusion. *Br J Cancer*. 1992. 66: pp.668–72.
21. Milano G, Etienne M, Cassuto-Viguier E., et al., Influence of sex and age on fluorouracil clearance. *J Clin Oncol*. 1992. 10: pp.1171–5.
22. Lévy E, Piedbois P, Buyse M., et al., Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer : effect of administration schedule and prognostic factors. *J Clin Oncol*. 1998. 16: pp.3537–41.
23. Santini J, Milano G, Thyss A., et al., 5-FU therapeutic monitoring with dose adjustment leads to an improved therapeutic index in head and neck cancer. *Br J Cancer*. 1989. 59: pp.287–90.
24. Thésaurus National de Cancérologie Digestive. Vol. Chapitre 6 : Cancer du canal anal. 2010.
25. Thésaurus National de Cancérologie Digestive. Vol. Chapitre 9 : Cancer du pancréas. 2011.
26. Thésaurus National de Cancérologie Digestive. Vol. Chapitre 2 : Cancer de l'estomac. 2014.
27. De Gramont A, Bosset J, Milan C., et al., Randomized trial comparing monthly low-dose leucovorin and fluorouracil bolus with bimonthly high-dose leucovorin and fluorouracil bolus plus continuous infusion for advanced colorectal cancer: a French intergroup study. *J Clin Oncol*. 1997. 15: pp.808–15.

28. Thésaurus National de Cancérologie Digestive. Vol. Chapitre 4 :Cancer colorectal métastatique. 2016.
29. Thésaurus National de Cancérologie Digestive. Vol. Chapitre 3 : Cancer du côlon. 2011.
30. Thésaurus National de Cancérologie Digestive. Vol. Chapitre 1 : Cancer de l'oesophage. 2013.
31. Vermorken J, Remenar E, Van Herpen C., et al., Cisplatin, fluorouracil, and docetaxel in unresectable head and neck cancer. *N Engl J Med.* 2007. 357:
32. French Adjuvant Study Group. Benefit of a high-dose epirubicin regimen in adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer patients with poor prognostic factors: 5-year follow-up results of French Adjuvant Study Group 05 randomized trial. *J Clin Oncol.* 2001. 19: pp.602–11.
33. Brufman G. Doubling epirubicin dose intensity (100 mg/m² versus 50 mg/m²) in the FEC regimen significantly increases response rates. An international randomised phase III study in metastatic breast cancer. The Epirubicin High Dose (HEPI 010) Study Group. *Ann Oncol.* 1997 8: pp.155–62.
34. Meulendijks D, Henricks L, Sonke G., 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: pp.1639–50.
35. Soria J-C, Vigot S, Massard C, Mir O. Cours de chimiothérapie antitumorale et traitement médical du cancer. XXVIIIe cours de Gustave-Roussy. John Libbey Eurotext; 2013. .
36. Lemaire L, Malet-Martino M, Longo S., et al., Fluoroacetaldehyde as cardiotoxic impurity in fluorouracil (Roche). *Lancet.* 1991. 337: pp.560.
37. Centre National Hospitalier d'Information sur le Médicament. Dossier du CNHIM. Anticancéreux : utilisation pratique 7ème édition. 2013.
38. Landre T, Uzzan B, Nicolas P., et al., Doublet chemotherapy vs. single-agent therapy with 5FU in elderly patients with metastatic colorectal cancer. a meta-analysis. *Int J Colorectal Dis.* 2015. 30:
39. U.S. Food And Drug Administration. Label information VISTOGARD.[Internet] Available from: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/208159s000lbl.pdf
40. Leichman C, Lenz H, Leichman L., et al., Quantitation of intratumoral thymidilate synthase expression predicts for disseminated colorectal cancer response and resistance to protracted infusion fluorouracil and weekly leucovorin. *J Clin Oncol.* 1997. 15: pp.3223–9.

41. Peters G, Van der Wilt C, Van Groeningen C., et al., Thymidylate synthase inhibition after administration of fluorouracil with and without leucovorin in colon cancer patients : implications for treatment with fluorouracil. *J Clin Oncol.* 1994. 12: pp.2035–42.
42. Johnston P, Fisher E, Rockette H., et al., The role of thymidylate synthase expression in prognosis and outcome of adjuvant chemotherapy in patients with rectal cancer. *J Clin Oncol.* 1994. 12: pp.2640–7.
43. Davies M, Johnston P, Kaur S., et al., Colorectal liver metastasis thymidilate synthase staining correlates with response to hepatic arterial floxuridine. *Clin Cancer Res.* 1999. 5: pp.325–8.
44. Salonga D, Danenberg K, Johnson M., et al., Colorectal tumors responding to 5-fluorouracil have low gene expression levels of dihydropyrimidine dehydrogenase, thymidylate synthase, and thymidine phosphorylase. *Clin Cancer Res.* 2000. 6: pp.1322–7.
45. Desmoulin F, Gilard V, Malet-Martino M., et al., Metabolism of capecitabine, an oral fluorouracil prodrug: (19)F NMR studies in animal models and human urine. *Drug Metab Dispos.* 2002. 30: pp.1221–9.
46. Schüller J, Cassidy J, Dumont E., et al., Preferential activation of capecitabine in tumor following oral administration to colorectal cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2000. 45: pp.291–7.
47. Bajetta E, Carnaghi C, Somma L., et al., A pilot safety study of capecitabine, a new oral fluoropyrimidine, in patients with advanced neoplastic disease. *Tumori.* 1996. 82: p.450–2.
48. Vidal Hoptimal. Résumé des caractéristiques produits de la capécitabine XELODA. Version du 18 Janvier 2016.
49. Van Cutsem E, Hoff P, Harper P., et al., Oral capecitabine vs intravenous 5-fluorouracil and leucovorin: integrated efficacy data and novel analyses from two large, randomised, phase III trials. *Br J Cancer.* 2004. 90: pp.1190–7.
50. Ajani J. Review of capecitabine as oral treatment of gastric, gastroesophageal, and esophageal cancers. *Cancer.* 2006. 107: pp.221–31.
51. Meulendijks D, Van Hasselt J, Huitema A., et al., Renal function, body surface area, and age are associated with risk of early-onset fluoropyrimidine-associated toxicity in patients treated with capecitabine-based anticancer regimens in daily clinical care. *Eur J Cancer.* 2016. 54: pp.120–30.
52. Ilich A, Danilak M, Kim C., et al., Effects of gender on capecitabine toxicity in colorectal cancer. *J Oncol Pharm Pract.* 2016. 22: pp.454–60.
53. Chabot G. Clinical Pharmacokinetics of Irinotecan. *Clin Pharmacokinet.* 1997. 33: pp.245–59.

54. Kawato Y, Aonuma M, Hirota Y., et al., Intracellular roles of SN-38, a metabolite of the camptothecin derivative CPT-11, in the antitumor effect of CPT-11. *Cancer Res.* 1991. 51: pp.4187–91.
55. Carlini L, Meropol N, Bever J., et al., UGT1A7 and UGT1A9 polymorphisms predict response and toxicity in colorectal cancer patients treated with capecitabine/irinotecan. *Clin Cancer Res.* 2005. 11: pp.1226–36.
56. Sablin M, Le Tourneau C, Faivre S., et al., Irinotecan and liver dysfunctions. *Thérapie.* 2007. 62: pp.111–5.
57. Slatter J, Schaaf L, Sams J., et al., Pharmacokinetics, metabolism, and excretion of irinotecan (CPT-11) following I.V. infusion of [(14)C]CPT-11 in cancer patients. *Drug Metab Dispos.* 2000. 28: pp.423–33.
58. Sasaki Y, Ohtsu A, Shimada Y., et al., Simultaneous administration of CPT-11 and fluorouracil: alteration of the pharmacokinetics of CPT-11 and SN-38 in patients with advanced colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1994 86: pp.1096–8.
59. Saltz L, Kanowitz J, Kemeny N., et al., Phase I clinical and pharmacokinetic study of irinotecan, fluorouracil, and leucovorin in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol.* 1996. 14: pp.2959–67.
60. Vidal Hoptimal. Résumé des caractéristiques produits de l'irinotécan. Version du 18 Janvier 2016.
61. Negoro S, Masuda N, Takada Y., et al., Randomised phase III trial of irinotecan combined with cisplatin for advanced non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer.* 2003. 88:
62. Abdallah E, Fanelli M, Souza E Silva V., et al. MRP1 expression in CTCs confers resistance to irinotecan-based chemotherapy in metastatic colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2016. 139: pp.890–8.
63. Chabot G, Abigeres D, Catimel G., et al., Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of irinotecan (CPT-11) and active metabolite SN-38 during phase I trials. *Ann Oncol.* 1995. 6: pp.141–51.
64. Kudoh S, Fukuoka M, Masuda N., et al., Relationship between the pharmacokinetics of irinotecan and diarrhea during combination chemotherapy with cisplatin. *Jpn J Cancer Res.* 1995. 86: pp.406–13.
65. Gupta E, Lestingi T, Mick R., et al., Metabolic fate of irinotecan in humans: correlation of glucuronidation with diarrhea. *Cancer Res.* 1994. 54: pp.3723–5.
66. Institut national de la recherche et de la santé médicale. Tests génétiques : Questions scientifiques, médicales et sociétales. 2009.
67. Guidance for Industry E15 Definitions for Genomic Biomarkers, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genomic Data and Sample Coding Categories [Internet]. 2008. Available from: www.fda.gov

68. U.S. Food And Drug Administration. Label information irinotecan. [Internet]. 2014. Available from: www.fda.gov
69. European Medicines Agency. Summary of product characteristics, capecitabine [Internet]. 2015. Available from: www.ema.europa.eu
70. ANSM. Résumé des caractéristiques produits du 5-Fluorouracile. Version du 26 Juin 2015. Base de Données Publique des Médicaments;
71. Diasio R, Beavers T, Carpenter J., et al., Familial deficiency of dihydropyrimidine dehydrogenase (biochemical basis for familial pyrimidinemia and severe 5-fluorouracil-induced toxicity). *J Clin Invest.* 1988. 81: pp.47–51.
72. Lu Z, Zhang R, Diasio R. Dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human peripheral blood mononuclear cells and liver: population characteristics, newly identified deficient patients, and clinical implication in fluorouracil chemotherapy. 1993;5433–8.
73. Boucher O, Laurent-Puig P. Médecine personnalisée en cancérologie digestive : vers un traitement à la carte. Springer. 2013.
74. Johnson M, Hageboutros A, Wang K., et al., Life-threatening toxicity in a dihydropyrimidine dehydrogenase deficient patient after treatment with topical 5-fluorouracil. *Clin Canc Res.* 1999. 5: pp.2006–11.
75. Liu X, Zhuang M, Wang Z., et al., Correlation between dihydropyrimidine dehydrogenase and efficacy and toxicity of fluoropyrimidine drugs. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2014. 18: pp.2772–6.
76. Caudle K, Thorn C, Klein T., et al., Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for dihydropyrimidine dehydrogenase genotype and fluoropyrimidine dosing. *Clin Pharmacol Ther.* 2013. 94: pp.640–5.
77. Henricks L, Lunenburg C, Meulendijks D. et al., Translating DPYD genotype into DPD phenotype: using the DPYD gene activity score. *Pharmacogenomics.* 2015. 16: pp.1277–86.
78. Seck K, Riemer S, Kates R. et al., Analysis of the DPYD gene implicated in 5-fluorouracil catabolism in a cohort of Caucasian individuals. *Clin Cancer Res.* 2005. 11: pp.5886–92.
79. Gross E, Ullrich T, Seck K., et al., Detailed analysis of five mutations in dihydropyrimidine dehydrogenase detected in cancer patients with 5-fluorouracil-related side effects. *Hum Mutat.* 2003. 22: pp.498.
80. Morel A, Boisdron-Celle M, Fey L., et al., Identification of a novel mutation in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene in a patient with a lethal outcome following 5-fluorouracil administration and the determination of its frequency in a population of 500 patients with colorectal carcinoma. *Clin Biochem.* 2007. 40: pp.11–7.

81. Alvella F, Caporale M, Cheli S., et al., Undetected toxicity risk in pharmacogenetic testing for dihydropyrimidine dehydrogenase. *Int J Mol Sci.* 2015. 16: pp.8884–95.
82. Teh L, Hamzah S, Hashim H., et al., Potential of dihydropyrimidine dehydrogenase genotypes in personalizing 5-fluorouracil therapy among colorectal cancer patients. *Ther Drug Monit.* 2013. 35: pp.624–30.
83. Gentile G, Botticelli A, Lionetto L., et al., Genotype-phenotype correlations in 5-fluorouracil metabolism: a candidate DPYD haplotype to improve toxicity prediction. *Pharmacogenomics J.* 2016. 16: pp.320–5.
84. Toffoli G, Giodini L, Buonadonna A., et al., Clinical validity of a DPYD-based pharmacogenetic test to predict severe toxicity to fluoropyrimidines. *Int J Cancer.* 2015. 137: pp.2971–80.
85. Dong Q, He Y, Zhou Z., et al., Relationship of serum level of dihydropyrimidine dehydrogenase and serum concentration of 5-fluorouracil to treatment response and adverse events in colorectal cancer patients. *Chinese J Cancer.* 2005. 24: pp.483–7.
86. Van Kuilenburg A., Meinsma R, Zoetekouw L., 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: pp.253–8.
87. Van Kuilenburg A, Häusler P, Schalhorn A., et al., Evaluation of 5-fluorouracil pharmacokinetics in cancer patients with a c.1905+1G>A mutation in DPYD by means of a Bayesian limited sampling strategy. *Clin Pharmacokinet.* 2012. 51: pp.163–74.
88. Amstutz U, Froehlich T, Largiadèr C., et al., Dihydropyrimidine dehydrogenase gene as a major predictor of severe 5-fluorouracil toxicity. *Pharmacogenomics.* 2011. 12: pp.1321–36.
89. Lee A, Shi Q, Pavey E., et al., DPYD Variants as predictors of 5-fluorouracil toxicity in adjuvant colon cancer treatment (NCCTG N0147). *J Natl Cancer Inst.* 2014. 106:
90. Lee A, Shi Q, Alberts S., et al., Association between DPYD c.1129-5923 C>G/hapB3 and severe toxicity to 5-fluorouracil-based chemotherapy in stage III colon cancer patients: NCCTG N0147 (Alliance). 2016. 26: pp.133–7.
91. Del Re M, Quaquarini E, Sottotetti , et al., F. Uncommon dihydropyrimidine dehydrogenase mutations and toxicity by fluoropyrimidines: a lethal case with a new variant. *Pharmacogenomics.* 2016. pp.5–9.
92. Li Q, Liu Y, Zhang H., et al., Influence of DPYD Genetic Polymorphisms on 5-Fluorouracil Toxicities in Patients with Colorectal Cancer: A Meta-Analysis. *Gastroenterol Res Pract.* 2014. 827989

93. Boige V, Vincent M, Alexandre P., et al., DPYD Genotyping to Predict Adverse Events Following Treatment With Fluorouracil-Based Adjuvant Chemotherapy in Patients With Stage III Colon Cancer: A Secondary Analysis of the PETACC-8 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2016. 2: pp.655–62.
94. Baskin Y, Amirfallah A, Unal O. et al., Dihydropyrimidine dehydrogenase 85T>C mutation is associated with ocular toxicity of 5-fluorouracil: a case report. *Am J Ther.* 2015. 22: pp.36–9.
95. Joerger M, Huitema A, Boot H., et al., Germline TYMS genotype is highly predictive in patients with metastatic gastrointestinal malignancies receiving capecitabine-based chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015. 75: pp.763–72.
96. Johnson M, Wang K, Smith J., et al., Quantitation of dihydropyrimidine dehydrogenase expression by real-time reverse transcription polymerase chain reaction. *Anal Biochem.* 2000. 278: pp.175–84.
97. Boisdron-Celle M, Remaud G, Traore S. et al., 5-Fluorouracil-related severe toxicity: a comparison of different methods for the pretherapeutic detection of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Cancer Lett.* 2007. 249: pp.271–82.
98. Lunenburg C, Henricks L, Guchelaar H., et al., Prospective DPYD genotyping to reduce the risk of fluoropyrimidine-induced severe toxicity: Ready for prime time. *Eur J Cancer.* 2016. 54: pp.40–8.
99. Mattison L, Ezzeldin H, Carpenter M., et al., Rapid identification of dihydropyrimidine-dehydrogenase deficiency by using a novel 2-13C-uracil breath test. *Clin Cancer Res.* 2004. 10: pp.2652–8.
100. Gagnon J-F. Régulation de l'inactivation intratumorale de l'agent antinéoplasique irinotécan par un mécanisme épigénétique. Pharmacie. Université de Laval, Québec; 2005.
101. Nagar S, Blanchard R. Pharmacogenetics of uridine diphosphoglucuronosyltransferase (UGT) 1A family members and its role in patient response to irinotecan. *Drug Metab Rev.* 2006. 38: pp.393–409.
102. Ritter J, Chen F, Sheen Y. et al., A novel complex locus UGT1 encodes human bilirubin, phenol, and other UDP- glucuronosyltransferase isozymes with identical carboxyl termini. *J Biol Chem.* 1992. 267: pp.3257–61.
103. Liu C, Chen P, Chiou T., et al., UGT1A1*28 polymorphism predicts irinotecan-induced severe toxicities without affecting treatment outcome and survival in patients with metastatic colorectal carcinoma. *Cancer.* 2008. 112: pp.1932–40.
104. Etienne-Grimaldi M, Boyer J, Thomas F., et al., UGT1A1 genotype and irinotecan therapy: general review and implementation in routine practice. *Fundam Clin Pharmacol.* 2015. 29: pp.219–37.
105. Ando Y, Saka H, Ando M., et al., Polymorphisms of UDP-glucuronosyltransferase gene and irinotecan toxicity: a pharmacogenetic analysis. *Cancer Res.* 2000. 60: pp.6921–6.

106. Petit FM. Aspects moléculaires des maladies rares du métabolisme hépatique : à propos de la maladie de Crigler-Najjar. Université de Nantes; 2008.
107. Maruo Y, Nakahara S, Yanagi T., et al., Genotype of UGT1A1 and phenotype correlation between Crigler-Najjar syndrome type II and Gilbert syndrome. *J Gastroenterol Hepatol.* 2016. 31: pp.403–8.
108. Iyer L, Das S, Janisch L., et al., UGT1A1*28 polymorphism as a determinant of irinotecan disposition and toxicity. *Pharmacogenomics J.* 2002. 2: pp.43–7.
109. Sai K, Saeki M, Saito Y., et al., UGT1A1 haplotypes associated with reduced glucuronidation and increased serum bilirubin in irinotecan-administered Japanese patients with cancer. *Clin Pharmacol Ther.* 2004. 75: pp.501–15..
110. Paoluzzi L, Singh A, Price D., et al., Influence of genetic variants in UGT1A1 and UGT1A9 on the in vivo glucuronidation of SN-38. *J Clin Pharmacol.* 2004. 44: pp.854–60.
111. Toffoli G, Cecchin E, Corona G., et al., The role of UGT1A1*28 polymorphism in the pharmacodynamics and pharmacokinetics of irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2006. 24: pp.3061–8.
112. Cecchin E, Innocenti F, D'Andrea M., et al., Predictive role of the UGT1A1, UGT1A7, and UGT1A9 genetic variants and their haplotypes on the outcome of metastatic colorectal cancer patients treated with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan. *J Clin Oncol.* 2009. 27: pp.2457–65.
113. Dias M, Pignon J, Karapetis C., et al., The effect of the UGT1A1*28 allele on survival after irinotecan-based chemotherapy: a collaborative meta-analysis. *Pharmacogenomics.* 2014. 14: pp.424–31.
114. Innocenti F, Undevia S, Iyer L., et al., Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan. *J Clin Oncol.* 2004. 22: pp.1382–8.
115. Rouits E, Boisdrion-Celle M, Dumont A., et al., Relevance of different UGT1A1 polymorphisms in irinotecan-induced toxicity: a molecular and clinical study of 75 patients. *Clin Cancer Res.* 2004. 10: pp.5151–9.
116. Marcuello E, Altés A, Menoyo A., et al., UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2004. 91: pp.678–82.
117. Sunakawa Y, Ichikawa W, Fujita K., et al., UGT1A1*1/*28 and *1/*6 genotypes have no effects on the efficacy and toxicity of FOLFIRI in Japanese patients with advanced colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2011. 68: pp.279–84.
118. Hoskins J, Goldberg R, Qu P., et al., UGT1A1*28 genotype and irinotecan-induced neutropenia: dose matters. *J Natl Cancer Inst.* 2007. 99: pp.1290–5.

119. Hu Z, Yu Q, Zhao Y., et al., Dose-dependent association between UGT1A1*28 polymorphism and irinotecan-induced diarrhoea: a meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2010. 46: pp.1856–65.
120. Liu X, Cheng D, Kuang Q., et al., Association of UGT1A1*28 polymorphisms with irinotecan-induced toxicities in colorectal cancer: a meta-analysis in Caucasians. *Pharmacogenomics J*. 2014. 14: pp.120–9.
121. Agence de la Biomédecine. Le rapport médical et scientifique de l'Agence de la biomédecine. 2014.
122. Swen J, Nijenhuis M, De Boer A. et al., Pharmacogenetics: from bench to byte--an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther*. 2011. 89: pp.662–73.
123. Gamelin E, Delva R, Jacob J., et al., Individual Fluorouracil Dose Adjustment Based on Pharmacokinetic Follow-Up Compared With Conventional Dosage: Results of a Multicenter Randomized Trial of Patients With Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 2008. 26: pp.2099–105.
124. Innocenti F, Schilsky R, Ramirez J., et al., Dose-finding and pharmacokinetic study to optimize the dosing of irinotecan according to the UGT1A1 genotype of patients with cancer. *J Clin Oncol*. 2014. 32: pp.2328–34.
125. Merrouche Y, Extra J, Abigeres D., et al., High dose-intensity of irinotecan administered every 3 weeks in advanced cancer patients: a feasibility study. *J Clin Oncol*. 1997. 15: pp.1080–6.
126. Marcuello E, Paez D, Paré L., et al., A genotype-directed phase I-IV dose-finding study of irinotecan in combination with fluorouracil/leucovorin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2011. 105: pp.53–7.
127. Deenen M, Meulendijks D, Cats A et al., Upfront Genotyping of DPYD*2A to Individualize Fluoropyrimidine Therapy: A Safety and Cost Analysis. *J Clin Oncol*. 2016. 34 : pp.227–34.

Annexe 1

Toxicité	Grade	Définition
Nausées / Vomissements	0	Aucun
	1	Nausées
	2	Vomissements transitoires
	3	Vomissements requérant un traitement
	4	Vomissements incoercibles
Neutropénie	0	> 2 G/L
	1	1,5-1,9 G/L
	2	1,0 à 1,4 G/L
	3	0,5 à 0,9 G/L
	4	< 0,5 G/L
Diarrhée	0	Aucune
	1	Passagère (moins de 2 jours)
	2	Tolérable (plus de 2 jours)
	3	Intolérable requérant un traitement
	4	Déshydratation/ diarrhée hémorragique
Syndrome main-pied	0	Aucun
	1	Érythème modéré, gonflement ou desquamation n'interférant pas avec la vie quotidienne
	2	Érythème, desquamation ou gonflement interférant mais sans empêcher totalement les activités physiques normales : petites ampoules ou ulcérations de moins de 2 cm de diamètre
	3	Ampoule, ulcération ou gonflement interférant avec la marche ou les activités quotidiennes normales. Le patient ne peut pas porter des vêtements habituels
	4	Processus diffus ou local entraînant des complications infectieuses ou un alitement ou une hospitalisation
Mucite	0	Aucune
	1	Érythème
	2	Érythème, ulcères, possibilité de manger des aliments solides
	3	Ulcères : nécessité d'un régime hydrique
	4	Alimentation impossible

Annexe 2

PERFORMANCE STATUS DE L'OMS

Activité	Score
Capable d'une activité identique à celle précédant la maladie	0
Activité physique diminuée, mais ambulatoire et capable de mener un travail	1
Ambulatoire et capable de prendre soin de soi-même. Incapable de travailler et alité moins de 50% du temps	2
Capable seulement de quelques activités. Alité ou en chaise plus de 50% du temps	3
Incapable de prendre soin de soi-même. Alité ou en chaise en permanence	4

Annexe 3

Dépistage du déficit en Dihydropyrimidine deshydrogénase : Enquête de pratique au niveau des laboratoires de biologie médicale

Cette enquête vise à établir un état des lieux des pratiques en France en matière de dépistage du déficit de la dihydropyrimidine deshydrogénase (DPD) par les laboratoires de biologie développant une activité de pharmacogénétique et réalisant eux-mêmes ou le cas échéant externalisant la recherche du déficit en DPD.
Une seule réponse par laboratoire est attendue.

*Indique question obligatoire

Profil de votre laboratoire

- ¹Ville où vous exercez :Département* : [____]

- ² Structure d'appartenance de votre laboratoire * : Structure publique (inclus les CLCC) Structure privée
Si Structure publique* : ^{2a} Merci de préciser : CHU CHG CLCC Autre :
Si Structure privée* : ^{2b} Merci de préciser : Laboratoire indépendant Laboratoire intégré dans une clinique privée Autre :

- ³ Votre laboratoire est-il intégré à une plateforme de génétique? * Oui Non
Si Oui :
^{3a} Précisez * : Plate-forme INCa Autre :

1

- ⁴ Est-ce que des chimiothérapies anticancéreuses sont prescrites dans l'établissement où vous exercez ?* Oui Non

- ⁶ Votre laboratoire pratique-t-il une activité de pharmacogénétique constitutionnelle? * Oui Non
Si Non (question 6):
 - ⁷ Connaissez-vous les conséquences d'un déficit enzymatique en dihydropyrimidine deshydrogénase (DPD) dans la prise en charge des patients recevant une chimiothérapie à base de fluoropyrimidine (5FU, capécitabine, UFT)?* Oui Non

Si Non → SORTIE DE L'ENQUÊTE

Si Oui:

- ⁸ Avez-vous déjà été sollicité pour rechercher un déficit en DPD ?* Oui Non

Si Oui :

- ^{8a} Nombre approximatif de demandes au cours des 12 derniers mois : [____]
- ^{8b} Quelle est votre attitude face à ces demandes :
 - vous acceptez ces prélèvements mais vous adressez ces analyses à un autre laboratoire
 - autre

Si Vous acceptez ces prélèvements sans effectuer vous même l'analyse:

- ^{8c} Merci de préciser à quel type de structure vous adressez ces analyses DPD :
 - laboratoire public CHU
 - laboratoire CLCC
 - laboratoire privé
 - autre

Si Oui ou Non (question 8)

2

➔ Passer au chapitre « Motivations et freins à la pratique du déficit en DPD » / Vous ne réalisez pas la recherche du déficit en DPD

Si Oui (question 6):

- ⁹ Nombre de praticiens agréés pour la réalisation d'examen de pharmacogénétique (caractéristiques génétiques constitutionnelles, hors oncogénétique) dans votre laboratoire*: |___|
- ¹⁰ Cette activité pharmacogénétique concerne * (choix multiple): les médicaments anticancéreux les médicaments non-anticancéreux

Si médicaments anticancéreux non coché: Passer à la question 7

Si médicaments anticancéreux :

- ^{11a} Réalisez vous au sein de votre laboratoire la recherche du déficit (quelle que soit la technique : phénotypage ou génotypage) en dihydropyrimidine deshydrogénase (DPD) ?*: Oui Non
- ^{11b} Externez vous les examens correspondant à une demande de recherche de déficit en dihydropyrimidine deshydrogénase (DPD) par phénotypage?*: Oui Non
- ^{11c} Externez vous les examens correspondant à une demande de recherche de déficit en dihydropyrimidine deshydrogénase (DPD) par génotypage des principaux variants?*: Oui Non
- ^{11d} Externez vous les examens correspondant à une demande de recherche de déficit en dihydropyrimidine deshydrogénase (DPD) par séquençage complet du gène DPYD?*: Oui Non
-
- ¹² Préciser les autres déficits que vous recherchez dans le domaine de l'oncologie* (choix multiple):
 TPMT UGT1A1 CYP2D6 autre(s) :

Si Oui (question 11a ou 11b ou 11c ou 11d) ➔ Passer au chapitre suivant « Contexte des prescriptions »

3

Si Non (question 11b ou 11c) ➔ Passer au chapitre « Motivations et freins à la pratique de la recherche du déficit en DPD – Vous ne réalisez pas actuellement la recherche du déficit en DPD »

- ⁷² Réalisez-vous le suivi pharmacocinétique des fluoropyrimidines ?* Oui Non

Si Oui : Vous réalisez ce suivi pharmacocinétique :

- Pour un schéma à base de 5FU, merci de préciser pour quels schémas :
- Pour un schéma à base de capécitabine, merci de préciser pour quels schémas :
- Pour un schéma à base d'UFT, merci de préciser :

Contexte des prescriptions de recherche du déficit en DPD qui vous sont adressées

Profil des médecins prescripteurs d'analyse DPD

- ¹³ Les demandes que vous recevez proviennent*:
 uniquement de médecins de votre établissement
 de médecins de votre établissement ET de médecins extérieurs exerçant dans votre département géographique
 de médecins de votre établissement ET de médecins extérieurs exerçant dans votre région
 de médecins de votre établissement ET de médecins extérieurs exerçant dans diverses régions françaises
 uniquement de médecins extérieurs à votre établissement exerçant dans votre département géographique
 uniquement de médecins extérieurs à votre établissement exerçant dans votre région
 uniquement de médecins extérieurs à votre établissement exerçant dans diverses régions françaises
- ¹⁴ Les demandes d'analyses DPD que vous recevez proviennent majoritairement* :
 de médecins du secteur public (inclus CLCC) de médecins du secteur privé les deux (volumes comparables)
- ¹⁵ Nombre approximatif de médecins prescripteurs au cours des 12 derniers mois : |___|

4

Contexte des prescriptions

- ¹⁷ Hormis pour vos prescripteurs réguliers, communiquez-vous aux médecins sur la recherche du déficit en DPD (nature, contraintes pré-analytiques, intérêt ...) que vous réalisez en routine hospitalière ? *(choix multiple)*
 - Oui via l'envoi d'informations spécifiques (mail, courrier ...)
 - Oui, via l'organisation de présentations spécifiques (staff, séminaire ...)
 - Oui, via le catalogue des analyses de votre laboratoire disponible sur internet/intranet

 - Oui, via un autre moyen, précisez lequel :
 - Non
- ¹⁸ Avez-vous un formulaire type de demande de recherche du déficit en DPD ? * oui non
- ¹⁹ Demandez-vous s'il s'agit d'un dépistage pré-thérapeutique OU d'une recherche post-toxicité ? *
 - oui, je demande cette information
 - non, je ne la demande pas
- ²⁰ Si vous avez accès à cette information, comment se répartissent ces demandes entre **Dépistage préventif** (avant traitement) et **Recherche post-toxicité** ? *
|___| % Dépistage préventif |___| % Recherche post-toxicité (somme = 100%)
 - Je n'ai pas accès à cette information
- ²² Si vous avez accès à cette information, dans le cadre du **Dépistage préventif** comment se répartissent les demandes entre 5FU, capécitabine et autre fluoropyrimidine ? *
|___| % 5FU |___| % Capécitabine |___| % Autre (UFT, S1) (somme = 100%)
 - Je n'ai pas accès à cette information
- ²⁵ Si vous avez accès à cette information, dans le cadre du **Dépistage préventif**, quel est le délai moyen entre la réception du prélèvement dans votre laboratoire et la date programmée pour l'administration de la fluoropyrimidine ? Délai moyen en jours : |___|
- ²⁶ Qui prend en charge le coût du transport du prélèvement ?*
 - votre établissement
 - l'établissement demandeur
 - le patient
 - je ne sais pas

5

Pratique hospitalière de la recherche du déficit en DPD dans votre laboratoire

- ²⁷ Votre stratégie analytique de recherche du déficit en DPD*:
 - Je pratique systématiquement un phénotypage et un génotypage
 - Nombre de patients chez qui vous avez recherché un déficit en DPD au cours des 12 derniers mois * : |___|
 - Je pratique d'abord un phénotypage et si un déficit est retrouvé je pratique un génotypage
 - Nombre de patients chez qui vous avez réalisé un phénotypage DPD de 1^{ère} intention au cours des 12 derniers mois * : |___|
 - Je pratique d'abord un génotypage et si une mutation est identifiée je pratique un phénotypage
 - Nombre de patients chez qui vous avez réalisé un génotypage DPYD de 1^{ère} intention au cours des 12 derniers mois * : |___|
 - Je pratique uniquement un phénotypage
 - Nombre de patients chez qui vous avez réalisé un phénotypage DPD au cours des 12 derniers mois * : |___|
 - Je pratique uniquement un génotypage
 - Nombre de patients chez qui vous avez réalisé un génotypage DPYD au cours des 12 derniers mois * : |___|
- ²⁸ Quelle a été l'évolution du nombre de recherches de déficits en DPD qui vous ont été adressés depuis les 3 dernières années *:
 - Stable
 - En diminution
 - En augmentation

Votre pratique du phénotypage de la DPD (Si items 1, 2, 3 ou 4 cochés pour question 27)

- ²⁹ Vous analysez **(choix multiple)*:
 - le dihydrouracile (UH2) et l'uracile (U) plasmatique physiologique (calcul du rapport UH2/U)
 - l'uracile (U) plasmatique uniquement
 - l'activité enzymatique DPD lymphocytaire
 - Autre, précisez :
- Si items (question 29) 1 ou 2 cochés : **Pour le dosage de l'U ou UH2 plasmatique**
- ^{30a} Quelle technique utilisez-vous pour le dosage de l'U et/ou UH2 plasmatique *:
 - HPLC/UPLC-UV
 - HPLC/UPLC-UV diode array-
 - HPLC/UPLC-Spectrométrie de masse
 - Autre :
 - ^{30b} Si UV ou UV Diode array :

6

- A quelle longueur d'onde mesurez vous l'absorption de l'uracile ? nm
 A quelle longueur d'onde mesurez vous l'absorption du dihydro-uracile ? nm
- ³¹ Matrice utilisée pour la gamme d'étalonnage * :
 Plasma (en ajout dosé) Plasma dialysé Eau solution d'albumine solution NaCl autre :
 - ³² Type d'extraction * :
 liquide-liquide phase solide
 - Concentrations extrêmes des gammes de calibration:
 Intervalles de concentrations d'Uracile: (valeur inférieure) et valeur supérieure) Unité:
 Intervalles de concentrations du Dihydrouracile : (valeur inférieure) et valeur supérieure) Unité:

 - Limites de Quantification de votre test:
 Pour l'uracile: Unité:
 Pour le dihydrouracile: Unité:
 - Participez vous à des échanges inter-laboratoires pour cette analyse * ?
 Oui Non
 - ³³ Participez-vous à des EEQ pour cette analyse* ? oui non
- Si oui : avec quelle organisation : autres, précisez : (texte libre)
- ³⁵ Cette analyse est-elle accréditée dans votre laboratoire * ?
 Oui Non En cours d'accréditation

Si item 3 coché (question 29) : Pour le dosage de l'activité enzymatique DPD lymphocytaire

- ^{30bis} Concernant la phase de séparation/préparation des lymphocytes :
 - ^{30bis} Quel est le délai maximal que vous avez défini entre le moment du prélèvement sanguin et la réception dans la structure réalisant la séparation des lymphocytes : minutes
 - ^{30bis} Cette étape de séparation/préparation des lymphocytes est réalisée (choix multiple):
 dans votre institution
 sur le lieu de prélèvement du patient pour les échantillons arrivant par transporteur
 dans une structure référente qui n'est ni votre institution ni le lieu du prélèvement

Pour les laboratoires ayant coché 2^{ème} ou 3^{ème} item précédant
 Comment vous sont adressés les culots lymphocytaires : en carboglace à +4°C autre

 - ^{30bis} Quelle est la technique utilisée pour la séparation des lymphocytes :
 Ficoll autre :

7

- ³⁶ Quel substrat utilisez-vous pour le dosage de l'activité enzymatique DPD * :
 5FU 5FU radiomarqué
 Uracile Uracile radiomarqué
 Thymine Thymine radiomarquée Autre
 - ³⁷ Quelle technique utilisez-vous pour le dosage de l'activité enzymatique DPD * :
 HPLC-UV UPLC-UV HPLC-radioactivité UPLC-radioactivité Autre
 - ³⁹ Participez-vous à des EEQ ou à des échanges inter-laboratoires pour cette analyse* ? oui non
 - ⁴⁰ Cette analyse est-elle accréditée dans votre laboratoire * ?
 Oui Non En cours d'accréditation
- ⁴¹ Précisez les **contraintes pré-analytiques** liées au prélèvement biologique pour le **phénotypage de la DPD**:
 - ^{41a} Le prélèvement nécessite-t-il d'être réalisé dans une plage horaire définie * ?
 Non oui, il doit être réalisé le matin, précisez plage horaire entre h et h autre, précisez :
 - ^{41b} En cas de recherche post-toxicité, avez-vous défini un délai minimum entre la fin de l'administration de la fluoropyrimidine et la réalisation du prélèvement ? *
 Non Oui, précisez ce délai minimum en jours : après du 5-FU en perfusion après de la capécitabine ou de l'UFT
 - ^{41c} Le prélèvement biologique (primaire) nécessite t-il d'être acheminé dans un délai imparti vers le laboratoire assurant son traitement pré-analytique (le vôtre ou un autre laboratoire) ? *
 Non dans les 30 min dans l'heure dans les 2 heures autre
 - ^{41d} Le transport du prélèvement biologique (primaire) vers ce laboratoire nécessite t-il un conditionnement réfrigéré ? *
 Non Oui, transport à 4°C Oui, transport en congélation Oui, autre, précisez :

8

- ⁴² Depuis combien d'années réalisez-vous le phénotypage de la DPD* : |_____| ans
- ^{42bis} Quelle est la fréquence à laquelle vous réalisez ces analyses de phénotypage DPD :
 Hebdomadaire Mensuel A la demande Autre, précisez :
- ⁴³ Quel est le nombre moyen de patients inclus dans une série d'analyses* : |_____|
- ⁴⁴ Quel est le coût moyen réel d'un phénotypage (hors coût personnel) : |_____| euros
- ⁴⁵ Quel est le coût moyen total d'un phénotypage incluant coût personnel : |_____| euros
- ⁴⁶ Quelle cotation appliquez-vous ?
- ⁴⁷ Qui prend en charge le coût du phénotypage? *
 votre établissement l'établissement demandeur qui est facturé le patient je ne sais pas
- ⁴⁸ Quelle est actuellement votre capacité maximum d'analyses (phénotypage DPD) par mois* : |_____|

Votre pratique du génotypage de la DPD (Si items 1, 2, 3 ou 5 cochés pour question 27)

- ⁴⁹ A partir de quel prélèvement biologique recherchez-vous les polymorphismes DPYD* (choix multiples):
 sang culot d'éléments figurés tumeur autre, précisez :
- ⁵⁰ L'analyse du gène DPYD que vous pratiquez inclut* (choix multiple):
 l'allèle *2A (c.1905+1G>A, rs3918290)
 l'allèle *13 (c.1679T>G, I560S, rs55886062)

 le variant c.2846A>T (D949V, rs67376798)
 le séquençage des exons de DPYD
 le séquençage exons + jonctions introns-exons de DPYD
 le séquençage complet DPYD
 Autre(s) variant(s) de la DPYD
- Si Autres variants* :
 Précisez : c.464T>A c.1236G>A (Hap B3, E412E, rs56038477) c.483+18G>A (Hap B3, rs56276561)
 c.1601C>T (S534N) (allèle *4) c.557A>G (Y186C)
 Autres : précisez rs number ou numéro d'allèle
- ⁵¹ Quelle(s) méthode(s) utilisez-vous pour l'analyse du gène DPYD? * (choix multiple)
 Séquençage Sanger
 PCR-RFLP
 Q-PCR (discrimination allélique, sondes Taqman)
 Pyroséquençage
 PCR et extension d'amorce (SBE)
 Séquençage haut-débit (NGS)
 Génotypage haut débit (Sequenom)
 RT-PCR et séquençage cDNA
 Autre, précisez :
- ⁵² Si vous n'utilisez pas de technique haut débit (NGS, Sequenom), envisagez-vous d'y avoir recours à l'avenir ? oui non
- ⁵³ Participez-vous à des échanges inter-laboratoires pour cette analyse* ? oui non
- ^{53 bis} Si vous participez à des EEQ pour cette analyse, pouvez-vous préciser le nom de l'organisme? ECAT Autre :
- ⁵⁴ Cette analyse est-elle accréditée dans votre laboratoire* ? Oui Non En cours d'accréditation

- ⁵⁵ Depuis combien d'années réalisez-vous le génotypage de la DPD* : | _____ | ans
- ^{55b} Quelle est la fréquence à laquelle vous réalisez ces analyses de génotypage DPYD :
 - Hebdomadaire
 - Mensuel
 - A la demande
 - Autre, précisez :
- ⁵⁶ Quel est le nombre moyen de patients inclus dans une série d'analyses* : | _____ |
- ⁵⁷ Quel est le coût moyen réel d'ungénotypage (hors coût personnel) : | _____ | euros
- ⁵⁸ Quel est le coût moyen total d'un génotypage incluant coût personnel : | _____ | euros
- ⁵⁹ Quelle cotation appliquez-vous ?
- ⁶⁰ Qui prend en charge le coût du génotypage* ?
 - votre établissement
 - l'établissement demandeur qui est facturé
 - le patient
 - je ne sais pas
- ⁶¹ Quelle est actuellement votre capacité maximum d'analyses (génotypage DPYD) par mois* : | _____ |

A ajouter pour les labo pratiquant phénotypage + génotypage

- ⁵⁸ Lorsque vous réalisez le phénotypage et le génotypage, vous facturez :
 - la somme du coût phénotypage + génotypage
 - un cout forfaitaire de : | _____ | euros

Votre rendu de résultats pour la recherche d'un déficit en DPD

- ⁶² Quel est le délai moyen de rendu du résultat de recherche du déficit en DPD par votre laboratoire* ?
 - 1-5 jours
 - 6-10 jours
 - 11-15 jours
 - 16-21 jours
 - >21 jours
- ⁶³ Ce délai est-il compatible avec une prise en charge optimale du patient par vos médecins prescripteurs* ?
 - Oui pour la majorité des prescripteurs
 - Seulement pour une minorité des prescripteurs
 - Non
 - Je ne sais pas

11

- ⁶⁴ De quelle façon communiquez-vous les résultats aux prescripteurs* ? (choix multiple)
 - via le dossier patient informatisé
 - par Fax
 - par courrier papier
 - par mail
 - par téléphone
 - via une consultation de génétique
 - autre
 Si par téléphone :
 - ^{64a} Communiquez-vous par téléphone ?
 - uniquement les résultats de patients avec déficit complet
 - uniquement les résultats de patients avec déficit complet ou déficit partiel
 - tous les résultats
- ⁶⁵ Formulez-vous explicitement une interprétation du résultat (i.e. patient non déficitaire vs patient déficitaire)* ? Oui Non
 - Si Oui :
 - ^{65a} Précisez selon quel référentiel* : Travaux du laboratoire
 - CPIC (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium)
 - DPWG (Dutch Pharmacogenetics Working Group)
 - Littérature scientifique, précisez :
 - autre
 - ^{65b} Distinguez-vous déficit complet et déficit partiel* ? Oui Non
 - Si Oui :
 - ^{65c} Comment définissez-vous un déficit complet* ? (choix multiple)
 - par l'existence d'un phénotype déficient (seuil correspondant à un déficit complet défini)
 - par la présence de 2 allèles mutés parmi les variants *2A, *13 ou c.2846A>T
 - autre, précisez :
 - ^{65d} Comment définissez-vous un déficit partiel* ? (choix multiple)
 - par l'existence d'un phénotype partiellement déficient (seuil correspondant à un déficit partiel défini)
 - par la présence d'un seul allèle muté parmi les variants *2A, *13 ou c.2846A>T
 - par la présence d'un seul allèle muté parmi les variants *2A, *13 ou c.2846A>T, obligatoirement associée à un phénotype partiellement déficient (seuil défini)
 - autre, précisez :

12

(Si Oui Q65b) Pour les laboratoires ayant répondu à la question 20 (connaissance du contexte des prescriptions dépistage préventif vs recherche post-toxicité):

- ⁶⁶ Dans le cadre du **dépistage préventif** du déficit en DPD, pouvez-vous estimer votre % de patients avec déficit complet : |____| %
- ⁶⁹ Dans le cadre du **dépistage préventif** du déficit en DPD, pouvez-vous estimer votre % de patients avec déficit partiel : |____| %

Si Non :

- ^{65a} Comment définissez-vous un déficit en DPD ? **(choix multiple)*
 - par l'existence d'un phénotype déficient (seuil déficit défini)
 - par la présence d'un seul allèle muté parmi les variants *2A, *13 ou c.2846A>T
 - par la présence d'un seul allèle muté parmi les variants *2A, *13 ou c.2846A>T, obligatoirement associée à un phénotype déficient (seuil défini)
 - par la présence de 2 allèles mutés parmi les variants *2A, *13 ou c.2846A>T
 - par la présence de 2 allèles mutés parmi les variants *2A, *13 ou c.2846A>T, obligatoirement associée à un phénotype déficient (seuil défini)
 - autre, précisez :

(Si Non Q65b) Pour les laboratoires ayant répondu à la question 20 (connaissance du contexte des prescriptions dépistage préventif vs recherche post-toxicité):

- ^{68bis} Dans le cadre du **dépistage préventif** du déficit en DPD, pouvez-vous estimer votre % de patients avec déficit en DPD : |____| %
- ⁶⁶ Formulez-vous explicitement une interprétation pour un patient présentant un phénotype proficient (métaboliseur ultra-rapide) ? Oui Non
- ⁶⁷ En cas de déficit, faites-vous des recommandations d'adaptations de doses aux prescripteurs? oui non

Si Oui :

- ^{67a} En fonction de quel référentiel ? **(choix multiple)*
 - Travaux du laboratoire
 - CPIC (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium)
 - DPWG (Dutch Pharmacogenetics Working Group) OK pour SUPPRIMER
 - Littérature scientifique, précisez :
 - autre

13

- ^{67b} Quelle est votre recommandation la plus fréquente en cas de déficit complet : **(choix multiple)*
 - Administration de fluoropyrimidine déconseillée
 - Fluoropyrimidine administrée à dose réduite, préciser le % moyen de réduction de dose : |____| %
 - Suivi pharmacocinétique du 5FU ou capécitabine et ajustement posologique
 - Pas de recommandation prédéfinie, discussion au cas par cas avec le clinicien
 - autre, précisez :
- ^{67c} Quelle est votre recommandation la plus fréquente en cas de déficit partiel identifié par génotypage: **(choix multiple)*
 - Administration de fluoropyrimidine déconseillée
 - Fluoropyrimidine administrée à dose réduite, préciser le % moyen de réduction de dose : |____| %
 - Fluoropyrimidine administrée à dose standard (en l'absence de facteurs de risque associés)
 - Suivi pharmacocinétique du 5FU ou de la capécitabine et ajustement posologique
 - Pas de recommandation prédéfinie, discussion au cas par cas avec le clinicien
 - autre, précisez :
- ^{67d} Quelle est votre recommandation la plus fréquente en cas de déficit partiel identifié par phénotypage: **(choix multiple)*
 - Administration de fluoropyrimidine déconseillée
 - Fluoropyrimidine administrée à dose réduite, préciser le % moyen de réduction de dose : |____| %
 - Fluoropyrimidine administrée à dose standard (en l'absence de facteurs de risque associés)
 - Suivi pharmacocinétique du 5FU ou de la capécitabine et ajustement posologique
 - Pas de recommandation prédéfinie, discussion au cas par cas avec le clinicien
 - autre, précisez :
- ^{67e} Estimez-vous que les médecins se réfèrent à vos recommandations d'adaptations de doses ? *

14

- jamais
- peu souvent
- la plupart du temps
- toujours
- je n'ai pas accès à cette information

- ^{67g} En cas de mise en évidence d'un génotype DPYD muté, faites-vous des recommandations aux prescripteurs sur les répercussions génétiques familiales? *
 - oui non

Freins et motivations au développement de la recherche du déficit en DPD

Vous pratiquez déjà la recherche du déficit en DPD :

- ⁷³ Quelles sont les principales difficultés que vous rencontrez dans votre pratique quotidienne ? * (choix multiple limité à 6 items maximum)
 - Contrainte de la signature du consentement éclairé pour le génotypage
 - Contrainte de la signature par le médecin de l'attestation de consultation pour le génotypage
 - Contraintes liées au prélèvement du patient (horaires ...)
 - Difficultés pré-analytiques au niveau de la réalisation et la prise en charge du prélèvement par le personnel infirmier
 - Difficultés au niveau des conditions d'acheminement du prélèvement au laboratoire (conditions de température, délai)
 - Moyens humains du laboratoire insuffisants
 - Moyens techniques du laboratoire insuffisants
 - Difficultés analytiques pour le phénotypage (validation des analyses, absence de standardisation des procédures analytiques)
 - Difficultés analytiques pour le génotypage
 - Absence d'EEQ disponible pour tout ou partie des analyses réalisées
 - Médecins non sensibilisés à l'intérêt de la recherche du déficit en DPD
 - Nombre de demandes insuffisant pour rentabiliser les techniques
 - Coût réel du ou des tests trop élevé par rapport à leur prise en charge
 - Difficulté à établir un seuil décisionnel pour un phénotype déficient et/ou partiellement déficient
 - Difficulté à formuler des recommandations de doses en raison d'absence de référentiel ou de recommandations collégiales ou officielles
 - Difficulté à rendre les résultats dans des délais compatibles avec une prise en charge optimale du patient

15

- ⁷⁴ Si de nouvelles recommandations sur la systématisation de la recherche du déficit en DPD étaient publiées (associées à des référentiels), votre laboratoire serait-il en mesure d'augmenter sa capacité d'analyse si les principales difficultés auxquelles il est actuellement confronté étaient levées ? *
 - Oui Non

Si Oui :

- ^{74a} **Oui, le laboratoire serait en mesure d'augmenter son volume d'analyse si les conditions suivantes étaient mises en place *** :

Merci d'indiquer au maximum les 5 principales conditions, de la plus importante (rang 1) à la moins importante (rang 5)

- Moins de contraintes au niveau du prélèvement (réalisation, transport) rang : | |
- Moyens humains mis à disposition du laboratoire rang : | |
- Moyens techniques mis à disposition du laboratoire rang : | |
- Diminution des coûts de l'analyse rang : | |
- Amélioration des techniques (simplification, performances accrues ...)
- Standardisation des procédures analytiques de phénotypage rang : | |
- Mise à disposition d'EEQ pour tout ou partie des analyses réalisées rang : | |

Si Non :

- ^{74b} **Non, le laboratoire ne serait pas en mesure d'augmenter son volume d'analyse pour les raisons suivantes *** :

Merci d'indiquer au maximum les 5 principales raisons, de la plus importante (rang 1) à la moins importante (rang 5)

- Difficultés pré-analytiques au niveau du prélèvement (réalisation, transport) rang : | |
- Manque de personnel technique rang : | |
- Manque d'équipement analytique adéquat rang : | |
- Difficultés analytiques au plan de la validation de ces analyses rang : | |
- Absence de standardisation des procédures analytiques de phénotypage rang : | |
- Absence d'EEQ disponible pour tout ou partie des analyses réalisées rang : | |
- Difficulté à rendre les résultats dans des délais compatibles avec une prise en charge optimale du patient rang : | |
- Coût réel du ou des tests trop élevé par rapport à leur prise en charge rang : | |
- Manque de motivation car non convaincu de l'utilité de ces tests rang : | |

Vous ne réalisez pas actuellement la recherche du déficit en DPD :

- ⁷⁵ Envisagez-vous de développer la recherche du déficit en DPD? * oui non

Si Oui :

- ^{75a} Par quel type de stratégie * :

- phénotypage DPD uniquement
- génotypage DPYD uniquement
- phénotypage ET génotypage DPYD
- phénotypage en 1^{ère} intention et si un déficit est retrouvé je pratiquerai un génotypage
- génotypage en 1^{ère} intention et si un déficit est retrouvé je pratiquerai un phénotypage

16

Si phénotypage :

- ^{75b} Par quel type d'approche :
 - le dihydrouracile (UH2) et l'uracile (U) plasmatique physiologique (calcul du rapport UH2/U)
 - l'uracile (U) plasmatique uniquement
 - l'activité enzymatique DPD lymphocytaire
 - Autre, précisez :
- ^{75c} Par quel type de technique :
 - HPLC-UV
 - UPLC-UV
 - HPLC-Spectrométrie de masse
 - UPLC-Spectrométrie de masse
 - Autre

Si génotypage :

- ^{75d} Nature des variants que vous envisagez d'analyser : *(choix multiple)*
 - variant *2A (c.1905+1G>A, rs3918290)
 - variant *13 (c.1679T>G, I560S, rs55886062)
 - variant c.2846A>T (D949V, rs67376798)
 - autres, précisez :
- ^{75e} Par quel type de technique : *(choix multiple)*
 - Séquençage Sanger
 - Q-PCR (discrimination allélique, sondes Taqman)
 - PCR et extension d'amorce (SBE)
 - Génotypage haut débit (Sequenom)
 - PCR-RFLP
 - Pyroséquençage
 - Séquençage haut-débit (NGS)
 - RT-PCR et séquençage cDNA
- ⁷⁶ Quelles sont vos motivations* : *(choix multiple)*
 - Les sollicitations des médecins sont de plus en plus fréquentes
 - Evolution favorable des niveaux de preuve scientifique
 - Elargir le panel de tests pharmacogénétiques offerts aux cliniciens
 - Il existe une opportunité dans votre laboratoire (recrutement de personnel et/ou acquisition de matériel)
 - Autres, précisez :

Si Non :

- ⁷⁷ Quels sont vos freins ?* *(choix multiple limité à 6 items maximum)*
 - Contraintes liées au prélèvement du patient (horaires ...)
 - Contrainte de la signature du consentement éclairé pour le génotypage
 - Difficultés pré-analytiques au niveau de la réalisation et la prise en charge du prélèvement par le personnel infirmier

17

- Difficultés au niveau des conditions d'acheminement du prélèvement au laboratoire (conditions de température, délai)
- Moyens humains du laboratoire insuffisants
- Moyens techniques du laboratoire insuffisants
- Difficultés analytiques au plan de la validation de ces analyses
- Absence de standardisation des procédures analytiques de phénotypage
- Absence d'EEQ disponible pour tout ou partie des analyses réalisées
- Médecins non sensibilisés à l'intérêt de la recherche du déficit en DPD
- Nombre de demandes insuffisant pour rentabiliser les techniques
- Coût réel du ou des tests trop élevé par rapport à leur prise en charge
- Difficulté à établir un seuil décisionnel pour un phénotype déficient et/ou partiellement déficient
- Difficulté à formuler des recommandations de doses en raison d'absence de référentiel ou de recommandations collégiales ou officielles
- Difficulté à rendre les résultats dans des délais compatibles avec une prise en charge optimale du patient
- Je ne suis pas convaincu(e) de l'utilité de ces tests (niveau de preuve scientifique insuffisant)
- Autre, précisez :

- ⁷⁸ Si de nouvelles recommandations sur la systématisation des recherches du déficit en DPD étaient publiées (associées à des référentiels), votre laboratoire serait-il en mesure de mettre en place ces analyses si les freins auxquels il est actuellement confronté étaient levés ? *

Oui Non

Si Oui :

- ^{78a} Oui, le laboratoire serait en mesure de développer ces analyses si les conditions suivantes étaient mises en place* :
Merci d'indiquer au maximum les 5 principales conditions, de la plus importante (rang 1) à la moins importante (rang 5)

- Moins de contraintes au niveau du prélèvement (réalisation, transport)	rang : [] [] [] [] []
- Moyens humains mis à disposition de votre laboratoire	rang : [] [] [] [] []
- Moyens techniques mis à disposition de votre laboratoire	rang : [] [] [] [] []
- Diminution des coûts de l'analyse	rang : [] [] [] [] []
- Amélioration des techniques (simplification, performances accrues ...)	rang : [] [] [] [] []
- Standardisation des procédures analytiques de phénotypage	rang : [] [] [] [] []
- Mise à disposition d'EEQ pour tout ou partie des analyses réalisées	rang : [] [] [] [] []

18

Serment de Galien

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

TITLE: Doses adjustments of 5-fluorouracile, capecitabine and irinotecan after genotyping of *DPYD* and *UGT1A1* and phenotyping of DPD activity: analysis of practices in the University Hospital of Limoges and in the University Cancer Institute Toulouse (IUCT) Oncopole

ABSTRACT: At the time of the individualisation of treatments in oncology, there has been a development of pharmacogenetic tests, in particular in the research of deficits of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) and uridine diphosphate glucuronosyltransferase (UGT1A1) to limit the toxicity and improve the efficiency of treatments by fluoropyrimidines and irinotecan. However, there is at the moment, no consensus either concerning the methods of research of these deficits or on the recommendations of doses adjustment to be done in case of deficit. We realised a retrospective study of the researches of DPD and UGT1A1 deficiencies in the University Hospital of Limoges, as well as a prospective study in the University Hospital of Limoges and IUCT Oncopole by determining *DPYD* and *UGT1A1* genotypes and DPD phenotypes in patients going to receive their first cure of fluoropyrimidines or irinotecan. We wished to compare the development of grade 3-4 toxicities and the dose adjustments realised in these two studies. It emerged from this study, that the recommendations of doses adjustments of fluoropyrimidines should take into account at the same time, the genotype and the phenotype to be optimal, and that they should be adapted to their method of administration. Moreover, the doses modifications must be applied to each patient, based on individual tolerance to treatment, especially as the existence of a DPD or UGT1A1 deficiency cannot alone explain symptoms of toxicity. However, the implementation of genotypes and phenotypes in the current practice in a preventative way, still requires to remove certain obstacles associated to the realisation of the samples.

TITRE : Adaptations posologiques du 5-fluorouracile, de la capécitabine et de l'irinotécan après génotypage de la *DPYD* et de l'*UGT1A1* et phénotypage de la DPD : analyse des pratiques au CHU de Limoges et à l'Institut Universitaire du Cancer de Toulouse (IUCT) Oncopole

RÉSUMÉ: À l'heure de l'individualisation des traitements en oncologie, on assiste au développement de tests pharmacogénétiques, notamment de la recherche de déficits en dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) et en uridine diphosphate glucuronosyltransférase 1A1 (UGT1A1), afin de limiter les toxicités et d'améliorer l'efficacité des traitements par les fluoropyrimidines et l'irinotécan. Cependant, il n'existe actuellement aucun consensus, ni concernant les modalités de recherche de ces déficits ni sur les recommandations d'adaptations de doses à réaliser en fonction de ces déficits. Nous avons réalisé une étude rétrospective des recherches de déficits en DPD et UGT1A1 au CHU de Limoges, ainsi qu'une étude prospective au CHU de Limoges et à l'IUCT Oncopole en pratiquant à la fois des génotypages de la *DPYD*, de l'*UGT1A1* et des phénotypages de la DPD chez les patients allant recevoir leur première cure de fluoropyrimidines ou d'irinotécan. Nous souhaitons dans ce travail comparer la survenue de toxicités de grade 3-4 et les réductions de doses réalisées dans ces deux études. Il est ressorti de ce travail que les recommandations d'adaptations de doses des fluoropyrimidines devraient tenir compte à la fois du génotype et du phénotype pour être optimales, mais également de leur mode d'administration. Les adaptations de doses doivent ensuite être adaptées à chaque patient, en fonction de la tolérance au traitement, d'autant plus que l'existence d'un déficit en DPD ou en UGT1A1 ne peut expliquer à lui seul l'apparition de toxicités sévères. Cependant, la mise en œuvre de génotypages et de phénotypages dans la pratique courante de manière préventive nécessite de lever encore certains freins liés à la réalisation des prélèvements.

DISCIPLINE : Pharmacie hospitalière

MOTS-CLÉS : 5-fluorouracile, capécitabine, irinotécan, déficit, dihydropyrimidine déshydrogénase, uridine diphosphate glucuronosyltransférase 1A1, toxicités, adaptations posologiques

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR :

U.F.R des Sciences Pharmaceutiques
146 rue Léo Saignat
33076 Bordeaux Cedex