

## Statusartikel

Ugeskr Læger 2021;183:V07200556

# Fæno- eller genotypetest for dihydropyrimidindehydrogenasemangel før fluoropyrimidinbehandling

Stig Ejdrup Andersen<sup>1</sup>, Niels Herluf Paulsen<sup>2</sup>, Per Pfeiffer<sup>3</sup>, Camilla Qvortrup<sup>4</sup> & Per Damkier<sup>2, 5</sup>

1) Klinisk Farmakologisk Enhed, Sjællands Universitetshospital, Roskilde, 2) Afdeling for Klinisk Biokemi og Farmakologi, Odense Universitetshospital, 3) Onkologisk Afdeling, Odense Universitetshospital, 4) Onkologisk Afdeling, Rigshospitalet, 5) Klinisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Syddansk Universitet

Ugeskr Læger 2021;183:V07200556

### HOVEDBUDSKABER

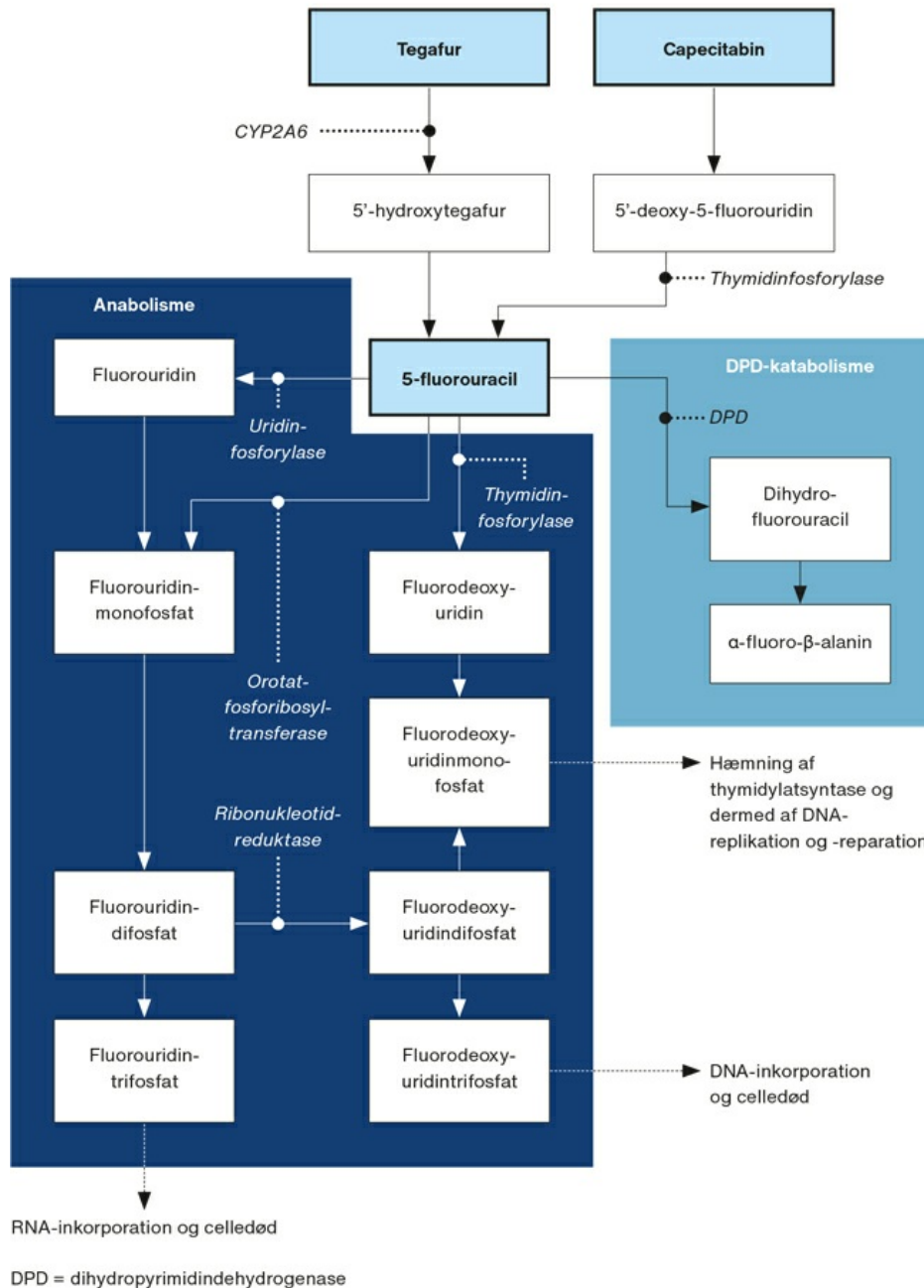
- Dihydropyrimidindehydrogenase (DPD)-mangel øger risikoen for svær fluoropyrimidintoksicitet.
- Lægemiddelstyrelsen og produktresuméet anbefaler test for DPD-mangel, men evidensniveauet er lavt, og der er ingen konsensus om valg af teststrategi.
- Relevante interessenter bør sammen udvikle en tværregional teststrategi.

Fluoropyrimidinlægemidler (FP), bl.a. 5-fluorouracil (5-FU) samt capecitabin og tegafur, der metaboliseres til 5-FU, er antimetabolitter og centrale i den kemoterapeutiske behandling af solide tumorer, f.eks. kolorektal-, bryst-, pancreas-, hoved-hals- og øsofagus-/ventrikelcancer. Ca. 5.000 danske patienter behandles årligt med FP. Capecitabin og tegafur gives peroralt. 5-FU kan administreres både som bolus og som kontinuerlig infusion over dage eller uger, og bivirkningsprofilen afhænger af dosis og regime. Enkelte patienter har øget risiko for svær toksicitet pga. nedsat eller komplet mangel på funktion af enzymet dihydropyrimidindehydrogenase (DPD), der nedbryder både endogene pyrimidiner og 5-FU. Derfor anbefalede både European Medicines Agency og Lægemiddelstyrelsen i foråret 2020 at foretage fænotype- og/eller genotypebestemmelse før den første behandling med FP [1], men det er omdiskuteret, hvilken teststrategi der er den optimale. I denne artikel gives der en status på området. For en detaljeret gennemgang af de underliggende studier henvises til *Knikman et al* [2].

### DIHYDROPYRIMIDINDEHYDROGENASE OG DPYD-GENOTYPER

FP's metabolisme er kompliceret (**Figur 1**). DPD-katalyseret omdannelse af 5-FU til inaktive metabolitter er den centrale, hastighedsbegrænsende proces [3], der omsætter 70-90%. Den resterende del omsættes ved anabole processer til aktive metabolitter, som medierer den cytotoxiske effekt [5]. Hos kaukasider findes der nedsat DPD-aktivitet hos ca. 10% og komplet DPD-mangel hos mindre end 1% [6, 7]. Prævalensen i den danske befolkning er ukendt. Hvis disse patienter får standarddosering, vil de eksponeres for højere koncentrationer af 5-FU og have en øget risiko for alvorlige bivirkninger og letalitet [8].

**FIGUR 1** Skitse af 5-fluorouracils, tegafurs og capecitabins metabolisme og virkningsmekanisme. Centrale enzymer er anført med kursiveret skrift. Udarbejdet med inspiration fra [3] og [4].



Den hyppigste årsag til nedsat DPD-aktivitet er enkeltnukleotidmutationer (SNP) i *DPYD*, der koder for DPD. De fleste er funktionelt betydningsløse, men enkelte ændrer mængden eller aktiviteten af DPD. Patienter kan være heterozygote, homozygote eller dobbelt heterozygote for en række *DPYD*-allelvarianter [9], hvoraf mere end 120 er beskrevet [10], og potentielt klinisk relevante kommer stadig til [11]. De fleste er inaktiverende, men enkelte øger DPD-aktiviteten [10]. I **Tabel 1** vises klinisk relevante varianter, hvis association til 5-FU-toksicitet er veldokumenteret [14, 15]. Alle er inaktiverende, og bærere har nedsat clearance af 5-FU. *rs3918290* (\*24) er den mest udforskede, og heterozygote bæreres 5-FU-clearance er omtrent halveret, mens homozygotes clearance vil være ekstremt lav [16]. I den nyeste guideline fra Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium angives også haplotypen HapB3 som klinisk relevant [12].

**TABEL 1** Klinisk relevante allelvarianter af *DPYD*, som koder for dihydropyrimidindehydrogenase, og anbefalet startdosis til heterozygote patienter<sup>a</sup>.

rs-nr.	Variant	Nukleotid-ændring	Protein-ændring	Minor allele frequency hos europæere [12]	Enzym-funktion	Anbefalet startdosis til heterozygote [13]
3918290	*2A	c.1905+1G>A	-	0,0079	Ingen	50%
67376798	-	c.2846A>T	p.(Asp949Val)	0,0037	Nedsat	50%
55886062	*13	c.1679T>G	p.(Ile560Ser)	0,0006	Ingen	50%
56038477	»HapB3«	c.1129-	p.(Glu412Glu)	0,0237	Nedsat	50%
75017182		5923C>G				

a) En detaljeret oversigt over enkelt nukleotidmutationer i *DPYD* findes på [www.pharmvar.org/gene/DPYD](http://www.pharmvar.org/gene/DPYD).

Kun en mindre del af tilfældene af nedsat DPD-aktivitet kan forklares med *DPYD*-varianter. Nedsat DPD-aktivitet ses hos patienter uden *DPYD*-varianter, og op til 50% af patienterne med 5-FU-toksicitet har ingen dokumenterede *DPYD*-varianter [8]. *Coenen et al* fandt nedsat DPD-aktivitet hos blot 18% af patienterne med *DPYD*-varianter, mens kun hver fjerde patient med lav DPD-aktivitet havde én af fire genvarianter [17]. Dog havde patienterne med *DPYD*-varianter som gruppe signifikant lavere DPD-aktivitet end gruppen uden *DPYD*-varianter.

#### DOSISJUSTERING VEJLEDT AF GENOTYPEBESTEMMELSE

*Deenen et al* bestemte den hyppigste SNP, *rs3918290* (\*2A), hos 2.038 patienter [18]. I den første serie fik 18 af de 22 fundne heterozygote patienter derefter en individuelt nedsat FP-dosis på 29-60% af standarddosis. Forekomsten af både let (grad 1-2) og svær (grad  $\geq 3$ ) toksicitet var sammenlignelig hos patienter med og uden genvarianter (54% vs. 61% hhv. 23% vs. 28%). Sammenlignet med 54 historiske heterozygote patienter, der var behandlet med fuld dosis, medførte dosisreduktion en lavere risiko for svær toksicitet (28% (95% konfidensinterval (KI): 10-53%) vs. 73% (95% KI: 58-85%)) og for lægemiddelasocieret død (0% (95% KI: 0-19%) vs. 10% (95% KI: 3-23%)).

*Henricks et al* beskrev 40 patienter, som var heterozygote for *rs3918290* (\*2A). Disse fik gennemsnitlig 53% af en normal FP-dosis, og deres totaloverlevelse og progressionsfri overlevelse var sammenlignelig med overlevelsen hos matchede patienter uden mutationer [19]. Svær toksicitet blev rapporteret hos 18% sammenlignet med hos 77% af de heterozygote patienter i en historisk kohorte, som havde fået standarddosering.

I et andet studie inkluderedes patienter uden ( $n = 1.018$ ) og med ( $n = 85$ ) en af de fire hyppigste *DPYD*-varianter [5]. Afhængigt af genotype fik heterozygote patienter 50% eller 75% af FP-standarddosis i de første to behandlingsserier, hvorefter de fik individuel dosistitrering. Skønt dosistilpasningen sikrede en sammenlignelig eksponering hos begge patientgrupper, var svær toksicitet hyppigst hos de heterozygote patienter (39% vs. 23%,  $p = 0,013$ ), formentlig fordi bærere af *rs67376798* og *HapB3* burde have fået en initialdosis, som var mindre end 75% af standarddosis. Derimod syntes halv initialdosis til bærere af *rs3918290* (\*2A) og *rs55886062* (\*13) at være sufficent til at mindske risikoen for svær toksicitet. Dosisøgning blev forsøgt hos 11 af de 85 patienter, og fem udviklede for mange bivirkninger. Dette illustrerer, at en eventuel dosisøgning bør foregå i et tæt samarbejde mellem speciallæge og patient. Dutch Pharmacogenetics Working Group-guideline anbefaler halv startdosis til

heterozygote patienter med en af de fire genvarianter, der er nævnt i Tabel 1 [13].

Dosisjustering er også vigtig, når 5-FU gives sammen med strålebehandling. *Lunenburger et al* fandt en øget risiko for svære gastrointestinale bivirkninger hos 34 heterozygote patienter, som fik kemostrålebehandling med 5-FU i standarddosis, men ikke hos 22 patienter, der fik reduceret dosis [20].

#### DOSISJUSTERING VEJLEDT AF FÆNOTYPEBESTEMMELSE

DPD omsætter det endogene substrat uracil til dihydrouracil (UH<sub>2</sub>). *Gamelin et al* udviklede en metode til måling af pyrimidiner og deres metabolitter, bl.a. uracil og UH<sub>2</sub> [21] og fandt i et studie (n = 81) en høj korrelation imellem UH<sub>2</sub>-uracil-ratio og både plasmakoncentrationen af 5-FU efter første behandlingsserie og 5-FU-clearance. Et senere studie tydede imidlertid på, at *DPYD*-genotypevarianter har en meget ringe betydning for baseline UH<sub>2</sub>-uracil-ratioen, formentlig fordi UH<sub>2</sub>-uracil-ratioen afspejler DPD-enzymaktiviteten på et umættet stadium [22].

Siden december 2018 har man i Frankrig krævet en vurdering af DPD-aktivitet før første behandling med 5-FU [6]. For nuværende bruges plasmakoncentrationen af uracil, hvor normal aktivitet defineres som [uracil] < 16 ng/ml, nedsat aktivitet som 16 ng/ml < [uracil] < 150 ng/ml og manglende aktivitet som [uracil] > 150 ng/ml. Dokumentationen for disse grænseværdier er begrænset, og uracilbestemmelse er forbundet med flere praktiske problemer. Prøvetidspunktet skal bl.a. standardiseres, da uracil har endogen døgnvariation, og centrifugering og analyse eller nedfrysning skal ske inden for en time efter prøvetagningen.

De senere år er flere fænotypiske test til screening for DPD-mangel kommet til, bl.a. direkte måling af DPD-aktivitet i perifere mononukleære blodceller og uracil breath test [23]. Men der er endnu ingen konsensus eller solid evidens, som definerer eller stratificerer fænotypisk DPD-mangel [4]. Desuden står teknisk metodevalidering, krav til laboratorieudstyr, svartider, organisation af rekvisition og svarafgivelse og utilstrækkelig diagnostisk præcision i vejen for en klinisk implementering.

#### DOSISJUSTERING VEJLEDT AF PLASMAKONCENTRATIONSBESTEMMELSE

FP har et snævert terapeutisk interval og udviser nonlinear kinetik [24]. Ved standarddosering efter overfladeareal (BSA) fås en betydelig interindividuel variation i plasmakoncentrationen [25], hvilket primært afspejler forskelle i omsætningshastigheden [23]. Ud over genetisk polymorfi af nøglezymer bidrager faktorer som alder, køn, sygdomsstadie, lægemiddelinteraktioner og komorbiditet til denne variation. Der er gjort flere forsøg på dosisjustering af 5-FU ud fra koncentrationsmåling [26], som kan foretages ud fra en enkelt koncentrationsmåling ved steady state [9] eller ud fra arealet under koncentrationstidskurven (AUC). Sammenlignet med dosering efter BSA, tydede en metaanalyse på, at individualiseret dosering styret ud fra plasmakoncentrationer forbedrer responsraten på 5-FU (oddsratio: 2,04 (95% KI: 1,41-2,95%)), men fraset en lavere risiko for mukositis, ændres tolerabiliteten ikke [24]. Studier af effekten på overlevelse mangler helt [26].

Der er publiceret algoritmer for dosistilpasning og studier, hvor man foreslår, hvordan plasmakoncentrationen kan styres ind i et fastlagt interval [27, 28], men på grund af mangelfulde data er det terapeutiske interval for AUC ikke endeligt fastlagt.

Mange praktiske forhold komplicerer denne tilgang til individualiseret dosering af 5-FU. Der skal f.eks. tages mere end én prøve til valid bestemmelse af AUC. Principielt kan man heller ikke med metoden forebygge toksicitet i første behandlingsserie, hvor der gives standarddosis, og dosisjustering ud fra bestemmelse af plasmakoncentrationer må for nuværende anses for utilstrækkeligt underbygget til at kunne implementeres i den kliniske rutine.

## VALIDITET

På trods af en betydelig forskningsindsats er det fortsat uklart, i hvilket omfang geno- og/eller fænotypetest kan anvendes til forebyggelse af alvorlig 5-FU-toksicitet, forbedring af responset på kemoterapi eller øget overlevelse. Figur 2 viser den teoretiske sammenhæng mellem en geno- og en fænotypetestning.

**FIGUR 2** Teoretisk sammenhæng imellem 5-fluorouracils toksicitet og geno- hhv. fænotype. Farverne illustrerer patienter med (lyseblå) og uden (mørkeblå) toksicitet.

		Fænotype	
		Normal omdanner	Langsom omdanner
Genotype	DPYD-variant		
	DPYD-vildtype	Toksicitet	
Ingen toksicitet			

En principiel udfordring med genotypebetemmelse til forudsigelse af svær toksicitet er en lav sensitivitet og en lav positiv prædiktiv værdi (PPV). DPD-aktiviteten varierer betragteligt, hos både patienter med og patienter

uden *DPYD*-varianter, og aktiviteten hos patienter med og uden *DPYD*-varianter er overlappende [6]. Svær toksicitet ses hos patienter både med og uden mutationer og hos patienter med lav og høj DPD-aktivitet, uafhængigt af deres *DPYD*-status. Dette tilskrives bl.a. mutationer i andre enzymsystemer [4].

Man har kun i få studier undersøgt værdien af at kombinere geno- og fænotypebestemmelse [29, 30]. Studierne er metodologisk diskutabile, men kombinationen af test synes ikke at forbedre validiteten væsentligt.

PPV vil altid være lav, når en test appliceres i en population med lav hyppighed af det, man leder efter, men en test med lav PPV kan alligevel tilføre værdi, hvis man forebygger alvorlige, patientnære hændelser. Det vil dog ske på bekostning af en høj andel falsk positive resultater.

PPV er i nogle datasæt bedre for uracilbaseret fænotypebestemmelse end for genotypebestemmelse, men der er ikke etableret international eller regulatorisk konsensus om den bedste teststrategi. I klinisk praksis er Holland og Frankrig de lande, hvor man har haft en national strategi længst. I Frankrig anvendes der altovervejende fænotypebestemmelse, og i Holland anvendes der altovervejende genotypebestemmelse. Den internationale diskurs afspejler meget konkret, at evidensen for valg af teststrategi på nuværende tidspunkt ikke er entydig.

## KONKLUSION

Rationalet bag implementering af DPD/*DPYD*-test før behandling med 5-FU for at forebygge alvorlige bivirkninger er biologisk plausibelt og klinisk meningsfyldt. Evidensen for en klinisk gevinst hviler altovervejende på ret konsistente, observationelle data. Der er intet regulatorisk påbud, men med den seneste tilføjelse til produktresuméet om, at DPD/*DPYD* bør vurderes før behandlingsstart, er det vores vurdering, at man i klinisk praksis ikke kan undlade at indføre en teststrategi.

Evidensgrundlaget for valg af optimal teststrategi er mangelfuldt. De bedst dokumenterede og mest udbredte strategier er fænotypebestemmelse (endogen uracilmetabolisme) og/eller genotypebestemmelse af varianter i *DPYD*, men testvaliditeten er kontroversiel. Valg af teststrategi afhænger dog også af bl.a. kvalitet og tilgængelighed af analyserne, omkostninger, praktiske forhold ved prøvetagning samt svartid og potentiel forsinkelse af nødvendig behandling. Vi anbefaler, at relevante danske interessenter samarbejder om at udvikle en teststrategi på tværs af regionerne.

**Korrespondance** *Stig Ejdrup Andersen*. E-mail: [seja@regionsjaelland.dk](mailto:seja@regionsjaelland.dk)

**Antaget** 16. december 2020

**Publiceret på ugeskriftet.dk** 8. februar 2021

**Interessekonflikter** Der er anført potentielle interessekonflikter. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på [ugeskriftet.dk](http://ugeskriftet.dk)

**Referencer** findes i artiklen publiceret på [ugeskriftet.dk](http://ugeskriftet.dk)

**Artikelreference** *Ugeskr Læger* 2021;183:V07200556

## SUMMARY

### Phenotype- or genotype test for dihydropyrimidin dehydrogenase deficiency before treatment with a fluoropyrimidine

Stig Ejdrup Andersen, Niels Herluf Paulsen, Per Pfeiffer, Camilla Qvortrup & Per Damkier

*Ugeskr Læger* 2021;183:V07200556

Some patients may have partial or complete deficiency of dihydropyrimidin dehydrogenase (DPD) and be more likely to experience severe toxicity with 5-fluorouracil. Since the spring of 2020, the Danish Medicines Agency has recommended genotype or phenotype testing before treatment with a fluoropyrimidine, but the most appropriate test strategy is debated. In this review, we present polymorphisms in the genes coding for DPD and summarise the evidence for DPD-enzyme deficiency testing and pharmacokinetic guided dosing.

## REFERENCER

1. Lægemedelstyrelsen. Sikkerhedsinformation vedr. 5-fluorouracil- (i.v.), capecitabin- og tegafurholdige præparater. <https://laegemiddelstyrelsen.dk/da/nyheder/2020/sikkerhedsinformation-vedr-5-fluorouracil-iv,-capecitabin-og-tegafurholdige-paeparater/> (9. jun 2020).
2. Knikman JE, Gelderblom H, Beijnen JH et al. Individualized dosing of fluoropyrimidine-based chemotherapy to prevent severe fluoropyrimidine-related toxicity: what are the options? *Clin Pharmacol Ther* (online 5. okt 2020).
3. Miura K, Kinouchi M, Ishida K et al. 5-FU Metabolism in cancer and orally-administrable 5-FU drugs. *Cancers (Basel)* 2010;2:1717-30.
4. Meulendijks D, Cats A, Beijnen JH et al. Improving safety of fluoropyrimidine chemotherapy by individualizing treatment based on dihydropyrimidine dehydrogenase activity – ready for clinical practice? *Cancer Treat Rev* 2016;50:23-34.
5. Mazuca F, Borro M, Botticelli A et al. Pre-treatment evaluation of 5-fluorouracil degradation rate: association of poor and ultra-rapid metabolism with severe toxicity in a colorectal cancer patients cohort. *Oncotarget* 2016;7:20612-20.
6. Henricks LM, Lunenburg CATC, de Man FM et al. DPYD genotype-guided dose individualisation of fluoropyrimidine therapy in patients with cancer: a prospective safety analysis. *Lancet Oncol* 2018;19:1459-67.
7. Pallet N, Hamdane S, Garinet S et al. A comprehensive population-based study comparing the phenotype and genotype in a pretherapeutic screen of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Br J Cancer* 2020;123:811-8.
8. van Kuilenburg ABP. Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5-fluorouracil. *Eur J Cancer* 2004;40:939-50.
9. Lee JJ, Beumer JH, Chu E. Therapeutic drug monitoring of 5-fluorouracil. *Cancer Chemother Pharmacol* 2016;78:447-64.
10. Offer SM, Fossum CC, Wegner NJ et al. Comparative functional analysis of DPYD variants of potential clinical relevance to dihydropyrimidine dehydrogenase activity. *Cancer Res* 2014;74:2545-54.
11. Froehlich TK, Amstutz U, Aebi S et al. Clinical importance of risk variants in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene for the prediction of early-onset fluoropyrimidine toxicity. *Int J Cancer* 2015;136:730-9.
12. Amstutz U, Henricks LM, Offer SM et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for dihydropyrimidine dehydrogenase genotype and fluoropyrimidine dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther* 2018;103:210-6.
13. Lunenburg CATC, van der Wouden CH, Nijenhuis M et al. Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene–drug interaction of DPYD and fluoropyrimidines. *Eur J Hum Genet* 2020;28:508-17.
14. Meulendijks D, Henricks LM, Sonke GS et al. Clinical relevance of DPYD variants c.1679T>G, c.1236G>A/HapB3, and c.1601G>A as predictors of severe fluoropyrimidine-associated toxicity: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol* 2015;16:1639-50.
15. Rosmarin D, Palles C, Church D et al. Genetic markers of toxicity from capecitabine and other fluorouracil-based regimens: investigation in the QUASAR2 Study, systematic review, and meta-analysis. *J Clin Oncol* 2014;32:1031-9.
16. Maring J, van Kuilenburg A, Haasjes J et al. Reduced 5-FU clearance in a patient with low DPD activity due to heterozygosity for a mutant allele of the DPYD gene. *Br J Cancer* 2002;86:1028-33.
17. Coenen MJH, Paulussen ADC, Breuer M et al. Evolution of dihydropyrimidine dehydrogenase diagnostic testing in a single center during an 8-year period of time. *Curr Ther Res Clin Exp* 2019;90:1-7.
18. Deenen MJ, Meulendijks D, Cats A et al. Upfront genotyping of DPYD\*2A to individualize fluoropyrimidine therapy: a safety and cost analysis. *J Clin Oncol* 2016;34:227-34.
19. Henricks LM, van Merendonk LN, Meulendijks D et al. Effectiveness and safety of reduced-dose fluoropyrimidine therapy in patients carrying the DPYD\*2A variant: a matched pair analysis. *Int J Cancer* 2019;144:2347-54.
20. Lunenburg CATC, Henricks LM, Dreussi E et al. Standard fluoropyrimidine dosages in chemoradiation therapy result in an

- increased risk of severe toxicity in DPYD variant allele carriers. *Eur J Cancer* 2018;104:210-8.
21. Gamelin E, Boisdron-Celle M, Guérin-Meyer V et al. Correlation between uracil and dihydrouracil plasma ratio, fluorouracil (5-FU) pharmacokinetic parameters, and tolerance in patients with advanced colorectal cancer: a potential interest for predicting 5-FU toxicity and determining optimal 5-FU dosage. *J Clin Oncol* 1999;17:1105.
  22. Sistonen J, Büchel B, Froehlich TK et al. Predicting 5-fluorouracil toxicity: DPD genotype and 5,6-dihydrouracil:uracil ratio. *Pharmacogenomics* 2014;15:1653-66.
  23. van Staveren MC, Guchelaar HJ, van Kuilenburg ABP et al. Evaluation of predictive tests for screening for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Pharmacogenomics J* 2013;13:389-95.
  24. Yang R, Zhang Y, Zhou H et al. Individual 5-Fluorouracil dose adjustment via pharmacokinetic monitoring versus conventional body-area-surface method: a meta-analysis. *Ther Drug Monit* 2016;38:79-86.
  25. Felici A, Verweij J, Sparreboom A. Dosing strategies for anticancer drugs: the good, the bad and body-surface area. *Eur J Cancer* 2002;38:1677-84.
  26. Beumer JH, Chu E, Allegra C et al. Therapeutic drug monitoring in oncology: IATDMCT recommendations for 5-fluorouracil therapy. *Clin Pharmacol Ther* 2019;105:598-613.
  27. Morawska K, Goirand F, Marceau L et al. 5-FU therapeutic drug monitoring as a valuable option to reduce toxicity in patients with gastrointestinal cancer. *Oncotarget* 2018;9:11559-71.
  28. Kaldate RR, Haregewoin A, Grier CE et al. Modeling the 5-fluorouracil area under the curve versus dose relationship to develop a pharmacokinetic dosing algorithm for colorectal cancer patients receiving FOLFOX6. *Oncologist* 2012;17:296-302.
  29. 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 Letters* 2007;249:271-82.
  30. Meulendijks D, Henricks LM, Jacobs BAW et al. Pretreatment serum uracil concentration as a predictor of severe and fatal fluoropyrimidine-associated toxicity. *Br J Cancer* 2017;116:1415-24.