# 5-fluorouracile : MSI, pharmacocinétique, DPD, TYMS et MTHFR

6

M. Boisdron-Celle, V. Guérin-Meyer et O. Capitain

#### Introduction

Le 5-fluorouracile (5-FU), antimétabolite connu depuis presque un demi-siècle, est l'un des plus anciens médicaments anticancéreux et reste encore à l'heure actuelle utilisé dans le traitement de nombreuses tumeurs solides. Considérant spécifiquement le cancer colorectal (CCR) et malgré l'avènement de nouvelles molécules telles que le raltitrexed, l'irinotécan ou encore l'oxaliplatine développés à partir de 1995, le 5-FU reste le cytotoxique de référence seul ou en association dans cette pathologie tant en situation adjuvante que métastatique.

Assez paradoxalement compte tenu de l'ancienneté de son utilisation, le meilleur schéma d'administration du 5-FU reste encore à l'heure actuelle sujet à controverses : perfusion bolus vs perfusion continue (avec des profils de réponse et de tolérance si différents que l'on peut considérer ces deux modalités comme des traitements distincts), fréquence des perfusions, posologies du 5-FU et de l'acide folinique, autant de paramètres qui restent à optimiser. De même, l'existence d'un effet-dose du 5-FU justifie le concept de schémas d'administration dits « intensifiés », intensification des posologies qui se heurtent inévitablement, du fait du faible index thérapeutique de la molécule à l'instar de la plupart des autres agents anticancéreux, à l'apparition de toxicités parfois sévères, voire mortelles, donc inacceptables.

#### M. Boisdron-Celle\* ⊠, V. Guérin-Meyer\*\* et O. Capitain\*\*

\*Département de Biopathologie du Cancer, Institut de Cancérologie de l'Ouest (ICO) UNICANCER ; Centre Recherche Cancérologie Nantes-Angers-INSERM U892, Angers ; CRCNA INSERM U892, ICO Paul Papin, 2, rue Moll, 49933 Angers Cedex 9

E-mail: michele.boisdron@ico.unicancer.fr

\*\*Département d'oncologie médicale, Institut de Cancérologie de l'Ouest (ICO) UNICANCER Paul Papin, 2, rue Moll, 49933 Angers Cedex 9

Sous la direction de Olivier Bouché et Pierre Laurent-Puig, *Médecine personnalisée en cancérologie digestive* — *Vers un traitement à la carte.* 

ISBN: 978-2-8178-0426-2, © Springer-Verlag Paris 2013

De ce constat, découle depuis quelques années une nouvelle approche basée cette fois sur la pharmacogénomique, étudiant le génome tumoral, qui serait prédictive de la réponse au traitement et sur la pharmacogénétique, prenant en compte le génome de l'hôte (polymorphismes des gènes impliqués dans le métabolisme du 5-FU), prédictive de la tolérance à la chimiothérapie. Nous décrirons dans ce chapitre des exemples correspondant à chacune de ces approches.

# 5-FU et adaptation au statut tumoral : phénotype MSI dans les CCR opérables

Le phénotype microsatellites instables (MSI) caractérise environ 15 % des cancers colorectaux (CCR) et résulte d'une altération dans le système de réparation de mésappariements des bases de l'ADN appelé MMR (*Mismatch Repair*) [1]. Il peut être d'origine sporadique (2/3 des cas) ou héréditaire (1/3 des cas, correspondant au syndrome de Lynch ou HNPCC = *Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer*) [2]. La détermination du statut MSI peut se faire selon deux techniques (un prélèvement pour congélation et l'utilisation de formol comme fixateur sont souhaitables) :

- soit par la mise en évidence de l'absence d'expression des protéines de réparation (MMR) MLH1, MSH2, et si possible MSH6 et PMS2 par immuno-histochimie dans les cellules tumorales [3];
- soit par la recherche par PCR d'une instabilité au niveau des microsatellites en analyse de fragments à l'aide de 5 marqueurs microsatellites (BAT25, BAT26, NR21, NR24 et NR27) [4].

Une tumeur est considérée comme MSI si elle présente une instabilité d'au moins 3 de ces 5 microsatellites mononucléotidiques.

Plusieurs études, dont une méta-analyse basée sur les données regroupées de 31 études publiées [5] et plus récemment une étude rapportée à l'ASCO en 2010 [6], ont confirmé que les patients avec une tumeur MSI avaient un meilleur pronostic que les patients avec une tumeur à microsatellites stables (MSS). En l'absence de chimiothérapie adjuvante, a été noté un risque de récidive deux fois moins important en cas de tumeur MSI qu'en cas de tumeur MMS.

Le statut microsatellite (MS) apparaît également être un marqueur prédictif de l'efficacité des fluoropyrimidines. Dans des modèles *in vitro*, a été démontrée la résistance au 5-FU de tumeurs MSI. Un des mécanismes d'action du 5-FU est son incorporation dans l'ADN et sa reconnaissance par le système MMR; des études cliniques ont mis en évidence l'absence de bénéfice d'une chimiothérapie à base de 5-FU chez les patients avec une tumeur MSI [7, 8]. La chimiothérapie adjuvante à base de 5-FU semble même avoir un effet délétère sur la survie de ces patients en cas de CCR de stade II. Deux récentes méta-analyses ont confirmé qu'elles n'observaient pas de différence de survie entre les patients MSI

recevant ou non une chimiothérapie adjuvante à base de 5-FU, alors que les patients MMS traités avaient une survie globale significativement augmentée (HR = 0.52, p < 0.0001) [9].

Pour les CCR de stade III, plusieurs études ont conduit à retenir le FOL-FOX comme le traitement adjuvant standard [10]. Pour les stades II, le FOLFOX ne semblait apporter un bénéfice qu'aux patients présentant des facteurs de risque élevé de récidive : T4, analyse de moins de 12 ganglions, présence d'emboles veineux, périnerveux et/ou lymphatiques, tumeur peu différenciée, perforation et pour certains occlusion révélatrice [11]. En revanche, le bénéfice d'une chimiothérapie par FOLFOX en fonction du phénotype MSI reste peu exploré. Certaines données préliminaires suggèrent que l'adjonction d'oxaliplatine au 5-FU pourrait rétablir le bénéfice de la chimiothérapie adjuvante chez les patients avec une tumeur MSI. Ces résultats devront être confirmés par l'analyse en cours des échantillons tumoraux provenant des essais randomisés antérieurement publiés comparant le 5-FU au FOLFOX (études MOSAIC et NSABP C07).

La détermination du statut microsatellite stable (MSS) ou instable (MSI) de la tumeur est donc devenue indispensable pour poser l'indication d'une chimiothérapie adjuvante pour un patient opéré d'un cancer de stade II avec facteurs de mauvais pronostic. Le bénéfice en survie pour les stades II étant modéré (entre 2 et 5 % en valeur absolue selon le risque de récidive avec fluoropyrimidines seules), il doit inciter les praticiens à les séparer selon leur risque de récidive :

- en cas de facteurs de risque élevé de récidive et d'un statut MMS : les patients pourraient être traités par 5-FU seul ou FOLFOX ;
- en cas de risque faible ou modéré (tumeurs MSI ou tumeurs MSS avec un ou plusieurs des facteurs suivants : T3, analyse de plus de 12 ganglions, absence d'emboles veineux, périnerveux et/ou lymphatiques, tumeur bien ou moyennement différenciée, et absence de perforation), l'indication d'une chimiothérapie adjuvante ne semble pas se justifier;
- en cas de tumeur MSI avec des facteurs de risque élevé de récidive, il n'existe actuellement pas de consensus.

L'indication d'une chimiothérapie pour les patients ayant un CCR de stade II est donc à discuter au cas par cas avec évaluation du rapport bénéfice/risque de cette chimiothérapie adjuvante en connaissant le statut MSI ou MSS de la tumeur [11]. Un gain potentiel est à pondérer en fonction de l'exposition aux toxicités de la chimiothérapie et du coût social.

# 5-FU et adaptation du traitement au patient : est-il possible d'améliorer l'administration du 5-FU dans le traitement du CCR ?

Le 5-FU est aujourd'hui administré sous forme d'un bolus suivi d'une infusion de plusieurs heures, car ce régime d'administration permet d'améliorer l'effet antitumoral (schéma LV5-FU2). Est-il possible de

faire encore mieux en individualisant les doses en fonction du métabolisme de chaque patient ?

Le suivi pharmacocinétique du 5-FU est proposé dans différentes localisations tumorales (ORL, colorectale) lorsque ce médicament est administré en perfusion continue (durée supérieure à 4 heures) et à haute dose (≥ 750 mg/m²) en association avec différentes molécules (sels de platine, irinotécan, antiangiogéniques, anti-EGFR, etc.). Cette pratique repose sur un faisceau d'arguments cliniques montrant un lien entre des concentrations élevées et le risque de toxicité et des concentrations faibles et une moins bonne probabilité de réponse. L'analyse de la littérature confirme qu'il existe des niveaux d'exposition seuils, celle-ci étant évaluée par l'aire sous la courbe des concentrations (AUC), au-delà desquels le risque de toxicité augmente. Le résultat du dosage est utilisé pour adapter la dose à la cure suivante. Le bénéfice effectivement apporté par la mise en œuvre de ces mesures a été démontré par des études comparatives et la comparaison aux données historiques montre que l'incidence des toxicités sévères a considérablement diminué depuis qu'elles sont systématiquement mises en œuvre. La réalisation systématique du dosage sanguin du 5-FU au décours de son administration permet également d'objectiver ou de confirmer une surexposition franche, situation nécessitant une prise en charge symptomatique immédiate du fait de l'absence à l'heure actuelle d'antidote commercialisé.

# Éviter les toxicités graves

Les fluoropyrimidines (5-FU, UFT, capécitabine, et très récemment le S1) sont des molécules très largement utilisées puisqu'elles entrent dans la composition de près de 45 % des protocoles de chimiothérapie. Ces molécules sont à l'origine de 20 à 25 % de toxicités sévères, de grade III-IV, selon les études, essentiellement digestives, hématopoïétiques et cutanéo-muqueuses, mortelles dans 0,4 % des cas [12, 13].

Elles sont non seulement utilisées en situation métastatique mais aussi et de plus en plus en situation adjuvante, c'est-à-dire pour des patients traités pour une tumeur localisée, ayant un risque de rechute. Un risque toxique sévère ne peut pas être pris dans ces conditions et le clinicien doit s'assurer du maximum de sécurité pour ses patients.

Ces effets toxiques sont dus à une large variabilité interindividuelle du métabolisme, dépendant principalement de l'activité de la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD), l'enzyme majeure de leur catabolisme, intervenant dans la première étape de son métabolisme. Ainsi, les patients ayant un déficit de l'activité de cette enzyme ont un risque accru de toxicité aiguë, précoce et grave avec le 5-FU, mais aussi avec les fluoropyrimidines orales disponibles en France, l'UFT et la capécitabine. Ces toxicités peuvent aboutir à une toxicité polyviscérale grave (4-8 %), potentiellement mortelle. Une fois installée, cette toxicité est irréversible et devrait

conduire à généraliser le dépistage préthérapeutique systématique du déficit, celui-ci étant asymptomatique.

Les fréquences des déficits en DPD, partiels ou complets, sont estimées dans la population à 3-5 % et 0,4 % respectivement. Leur existence est souvent liée à un polymorphisme d'origine génétique, c'est-à-dire des mutations ponctuelles ou SNPs (*Single nucleotide polymorphisms*) présentes sur le gène codant pour la DPD.

#### Présentation de la voie catabolique

La DPD est une enzyme du catabolisme des pyrimidines naturelles (uracile et thymidine) et fluorées (médicamenteuses). Elle est ubiquitaire, responsable du catabolisme de 85 % du 5-FU, et son activité est soumise à un polymorphisme génétique, à transmission autosomique codominante [14, 15]. Le 5-FU est éliminé principalement par voie métabolique, essentiellement au niveau hépatique. L'élimination urinaire du 5-FU sous forme inchangée ne représente que 5 à 15 % de la dose administrée. La réaction initiale, *via* la DPD, est aussi l'étape majeure et limitante.

Elle permet la réduction du 5-FU en 5-fluoro-5,6-dihydrouracile (FUH<sub>2</sub>). Elle est également responsable de la transformation des bases pyrimidiques naturelles (uracile et thymine) en leurs dérivés dihydrogénés (dihydrouracile [UH<sub>2</sub>] et dihydrothymine). La deuxième étape du catabolisme fait intervenir la dihydropyrimidinase pour former l'acide 5-fluorouréidopropionique (FUPA), qui est finalement métabolisé en α-fluoro-β-alanine (FBA) sous l'action de l'uréidopropionase.

L'activité de la DPD possède une grande variabilité interindividuelle, avec des valeurs d'activité leucocytaire pouvant être six fois plus élevées d'un patient à l'autre. Il a été montré que, quelque soit la population étudiée (sujets sains ou malades), la distribution de cette activité était gaussienne [16, 17].

Le déficit enzymatique étant d'origine génétique, la détermination du mode de transmission du déficit en DPD a été effectuée grâce à l'étude de différentes familles dont un des membres, suite à une toxicité au 5-FU, a été diagnostiqué déficitaire. Les premiers résultats ont suggéré un mode de transmission autosomique récessif [15]. Cependant, ce type de transmission ne permet pas d'expliquer les déficits partiels correspondant à un génotype hétérozygote. Une étude plus récente a permis de montrer que le mode de transmission était en fait autosomique codominant [18].

Plus d'une trentaine de SNPs ont été rapportés au niveau du gène de la DPD, certains sont silencieux, d'autres, une quinzaine, sont situés à des endroits majeurs pour l'activité de l'enzyme. La mutation délétère la plus étudiée mais pas la plus fréquente (IVS14+1G>A) est localisée sur le site d'épissage près de l'exon 14 [19]. Il a été montré que l'activité de la protéine mutée était nulle chez les sujets homozygotes [20]. À l'état hétérozygote, son activité est réduite de plus de la moitié par rapport à un sujet non muté, ce qui est suffisant pour induire une toxicité sévère au 5-FU.

#### Pour cribler de façon efficace les patients à haut risque de toxicité

Différentes approches ont été développées. Elles doivent répondre à un certain nombre de critères et contraintes, tels qu'une bonne sensibilité et une bonne spécificité, et respecter un délai de rendu de résultats suffisamment court afin de ne pas retarder la mise en traitement [21, 22].

La méthode de mesure de l'activité enzymatique par technique radioenzymatique n'est pas adaptée à un dépistage à grande échelle [17]. L'uracile, substrat naturel de la DPD, peut être dosé dans les urines ou le plasma. En effet, la présence de pyrimidines naturelles dans les urines, à concentration élevées, est à l'origine du terme « pyrimidinurie congénitale ». Certains auteurs ont mis au point un dosage de pyrimidine naturelle, uracile ou thymine, urinaire. Cependant, cette approche phénotypique, par dosage urinaire HPLC ne détecte que les insuffisances enzymatiques complètes [23].

Une autre possibilité est le dosage de l'uracile (U) et du dihydrouracile (UH<sub>2</sub>) plasmatique. Dans différentes études, il a été montré une bonne corrélation entre le rapport  $UH_2/U$  et la gravité des épisodes toxiques [22, 24, 25]. On s'intéresse alors au rapport métabolite sur substrat naturel (indice de métabolisation), reflet de l'activité globale de l'enzyme. Une étude réalisée chez 250 patients atteints d'un cancer colorectal métastatique a montré une bonne corrélation entre le rapport  $UH_2/U$  et à la fois les concentrations plasmatiques à la première cure et la clairance d'élimination du 5-FU. De plus, les patients ayant eu une toxicité avaient un rapport  $UH_2/U$  initial significativement plus faible que les patients n'ayant pas eu de toxicité (4,2 ± 2,5 vs 8 ± 2,5) (p < 0,001) [21, 22].

L'approche génotypique est plus récente grâce à la biologie moléculaire. Une trentaine de mutations ponctuelles du gène de la DPD ont été rapportées, la moitié d'entre elles ayant un retentissement sur l'activité de l'enzyme, les autres n'entraînant pas de déficit quantitatif d'activité. La plus connue des mutations délétères est présente sur le site d'épissage près de l'exon 14 [26]. En revanche, la plus fréquente est la 2846 A>T.

La fréquence des mutations délétères a été évaluée dans une étude portant sur 11 351 patients (tableau I) [22]. Il ressort de cette étude multicentrique présentée en juillet 2012 que 346 patients (3 %) étaient porteurs d'une ou plusieurs mutations délétères. Dans la population dépistée après toxicités graves (247 patients), ces mutations ont été retrouvées chez 82 patients (33 %) ayant fait une toxicité grave et chez 16 patients décédés (59 %) (tableau II). La recherche des mutations à elle seule est donc insuffisante. Le rapport UH<sub>2</sub>/U était caractéristique d'un indice de métabolisation faible chez 211 patients (85 %) ayant présenté une toxicité grave et pour 24 des patients (89 %) décédés.

Mutations	Nombre de patients	Pourcentage (%)
Hétérozygote 2846 A>T	179	1,56
Hétérozygote DPYD*2A	127	1,12
Homozygote DPYD*2A	3	0,03
Hétérozygote DPYD*13	22	0,19
Hétérozygote DPYD*7	10	0,09
Hétérozygote L155X	2	0,02
Hétérozygote DPYD*2A+2846A>T	2	0,02
Hétérozygote DPYD*2A+DPYD*13	1	0,009

Tableau I - Fréquence des mutations observées dans la population totale de 11 351 patients.

**Tableau II** – Screening des patients déficitaires en DPD : comparaison génotypage, phénotypage (UH<sub>2</sub>/U) et approche multiparamétrique.

Patients N	1 mutation ou plus N (%)	UH <sub>2</sub> /U N (%)	Approche multiparamétrique (ODPM TOX <sup>TM</sup> ) N (%)
Total 247	82 (33 %)	211 (85 %)	242 (98 %)
DCD 27	16 (59 %)	24 (89 %)	27 (100 %)

En revanche, de façon intéressante, le couplage génotype-phénotype, comme cela a déjà été publié [21], associé à une approche multifactorielle (5-FU<sup>OPDM ToxTM</sup>, ODPM, France) permettait de dépister 242 des patients (98 %) avant fait une toxicité grave et 247 des patients (100 %) décédés. Actuellement, cette approche est la plus spécificique et la plus sensible. En effet, le rapport UH<sub>2</sub>/U a une grande sensibilité mais une plus faible spécificité, alors que le génotypage est caractérisé par une excellente spécificité mais une médiocre sensibilité. Les deux approches associées aux caractéristiques physiologiques et physiopathologiques du patient se complètent et, combinées, permettent de détecter 98 % des patients déficitaires [22]. Ainsi, ce screening des patients à haut risque de toxicité est tout à fait réalisable en pratique courante (résultats en 8 jours). Enfin, le dépistage ne se limite en aucune façon à un simple rendu de résultats : déficitaire ou non déficitaire. Le diagnostic de déficit le plus souvent ne contre-indique pas le traitement par fluoropyrimidines. Il implique une réduction de dose et surtout une surveillance pharmacocinétique. Le conseil thérapeutique est donc indispensable pour aider le clinicien à trouver la dose de 5-FU adéquate. Avec cette approche combinée de dépistage préthérapeutique de déficit en DPD et de surveillance pharmacocinétique en cas de déficit avéré, le pourcentage d'effets secondaires graves passe de 20-25 % à 0,6 %. Une étude

médico-économique rétrospective présentée à l'ASCO GI en janvier 2012 démontrait clairement l'intérêt économique de ce dépistage [27]. Une étude prospective cofinancée par l'INCa et la Ligue Contre le Cancer est en cours.

#### Administrer la bonne dose

Les administrations à haute dose et les expositions prolongées au 5-FU sont associées à une cytotoxicité plus importante et donc à une toxicité systémique qui varie en fonction du mode d'administration. Le bolus est en général à l'origine de toxicité hématologique, tandis que les perfusions prolongées seront à l'origine de toxicité digestive et du syndrome mains-pieds. Face à l'importante variabilité pharmacocinétique du 5-FU, plusieurs auteurs ont recherché un lien entre le niveau d'exposition individuel et la toxicité. Les résultats doivent être interprétés en fonction du protocole d'administration puisque la concentration attendue à un temps donné est très différente selon les cas. Dans les CCR, le 5-FU est administré seul (LV5-FU2) ou associé à d'autres molécules (oxaliplatine (FOLFOX), irinotécan (FOLFIRI), anti-EGFR (cétuximab, panitumumab), antiangiogénique (bevacizumab). Dans ces indications, il est utilisé à la dose de 1 200 mg/m<sup>2</sup> en perfusion de 4 heures ou plus souvent de 2 400 mg/m<sup>2</sup> avec ou sans bolus préalable en perfusion continue de 46 heures. Ainsi, selon le cas, les études publiées concernent davantage l'une ou l'autre des populations.

## Variabilités métaboliques, causes et conséquences

Depuis les années 1990, de nombreux auteurs ont montré que le 5-FU avait une pharmacocinétique non linéaire et qu'il existait une importante variation interindividuelle. Ainsi, Trump *et al.* [28] retrouvaient un coefficient de variation inter-patient des concentrations à l'équilibre (Css) de 15 à 20 %.

Après injection intraveineuse directe, la concentration plasmatique diminue rapidement avec une première demi-vie de 6 à 20 minutes puis plus lentement, selon une demi-vie d'environ 2 heures. La fixation aux protéines plasmatiques est faible, de l'ordre de 10 %. La pharmacocinétique du 5-FU n'est pas linéaire avec une importante variabilité interindividuelle. De plus, elle est variable selon le mode d'administration.

#### Variation selon le mode d'administration

Après injection intraveineuse en bolus, la demi-vie est très courte, variant de 8 à 22 minutes. Le 5-FU se distribue rapidement et largement dans l'organisme puisque le volume de distribution varie de 14 à 54 litres. La clairance se situe entre 0,5 et 2 L/min. Dans ce cas, le métabolisme est essentiellement hépatique (95 %), la clairance du 5-FU étant globalement équivalente au débit sanguin hépatique (1 à 1,5 L/min).

Lors de perfusions continues et prolongées, la cinétique change. La clairance plasmatique est plus élevée (1 à 7 L/min), c'est-à-dire beaucoup plus que le seul débit sanguin hépatique témoignant d'une extraction pulmonaire très importante, de l'ordre de 50 % et, dans une moindre mesure, rénale.

#### Facteurs génétiques et épigénétiques du métabolisme du 5-FU

Le métabolisme du 5-FU dépend principalement de l'activité de la DPD. Son activité est caractérisée par une grande variabilité interindividuelle s'élevant jusqu'à un facteur 6 [17, 29].

#### Facteurs génétiques

Le déficit génétique en DPD est de transmission autosomique dominant, ce qui explique les formes familiales [30, 31]. Ces déficits asymptomatiques sont à l'origine d'une diminution importante de la clairance du 5-FU, d'une augmentation parfois de plusieurs heures de la demi-vie et d'une élimination à 90 % urinaire d'où l'apparition d'une toxicité polyviscérale.

#### Facteurs épigénétiques

Différents auteurs ont montré que la clairance du 5-FU est significativement plus faible chez la femme que chez l'homme. L'activité de la DPD suit un rythme circadien avec un pic d'activité à 1 heure et un minimum à 13 heures, conduisant les concentrations plasmatiques de 5-FU à un rythme circadien équivalent, avec un taux maximum à 11 heures et un taux minimum à 23 heures. Une corrélation linéaire négative entre l'activité DPD et les concentrations de 5-FU a en effet été mise en évidence [32].

## Résultats des études cliniques

Dans le traitement des CCR, le 5-FU en perfusion continue associé à l'acide folinique a montré sa supériorité par rapport à des administrations en bolus [33]. Une étude randomisée a montré que le protocole LV5-FU2 (toutes les 2 semaines) permettait d'obtenir de façon significative plus de réponse objective (32,6 vs 14,5 %) que le protocole bolus Mayo Clinic, avec beaucoup moins d'effets secondaires de grade III-IV (11,1 vs 23,9 %) [33].

Dans différentes études, des corrélations significatives ont été retrouvées entre toxicité et C<sub>SS</sub> ou aire sous la courbe (AUC) de 5-FU. Lors d'administration IV continue, des AUC > 25-30 000 mg,h.L<sup>-1</sup> ont été corrélées de façon significative aux leucopénies, mucites, diarrhées et syndrome mains-pieds [34].

Parallèlement, des études visant à étudier l'impact du suivi thérapeutique sur l'efficacité ont été réalisées. Dans plusieurs études où le 5-FU était utilisé seul, des AUC > 24 000 mg.h.L<sup>-1</sup> étaient corrélées à un meilleur taux de réponses objectives. Il s'agissait pour la plupart d'études de phase II non

randomisées. À ce jour, une seule étude randomisée a montré un impact de l'intensification thérapeutique du 5-FU par suivi pharmacocinétique en termes de réponse objective et de survie sans progression [34]. Les doses movennes de 5-FU administrées étaient de 1 500 mg/m<sup>2</sup>/semaine vs 1 790 ± 386 mg/m<sup>2</sup>/semaine, ce qui indiquait que l'adaptation de posologie conduisait le plus souvent à une intensification thérapeutique par rapport au traitement standard. Les résultats montraient une différence significative en termes de réponse objective entre les deux bras : 46,1 % si non adapté vs 58,6 % si adapté. De même, les patients bénéficiant d'une intensification thérapeutique avaient des taux de survie supérieurs à 1 an (48,5 vs 67,5 %) et à 2 ans (12,6 vs 27,5 %). La tolérance était aussi meilleure dans le bras avec suivi thérapeutique. Depuis, d'autres études non comparatives associant 5-FU et oxaliplatine ou irinotécan ont été rapportées. La dernière étude publiée [35] montre clairement l'amélioration en termes de réponse et de tolérance des schémas adaptés. Dans cette étude, chez 118 patients traités en première ligne d'un CCR métastatique par FOLFOX, l'individualisation thérapeutique du 5-FU par suivi pharmacocinétique à permis d'obtenir un taux de réponses de 69,7 vs 44 % dans le bras non adapté. La survie sans progression médiane a été de 16 vs 10 mois avec une survie globale de 28 vs 22 mois dans le bras non adapté avec une tolérance meilleure dans le bras adapté notamment en termes de diarrhée (1,7 vs 12 %) et de neutropénie (18 vs 25 %). Dans le bras avec suivi pharmacocinétique, les doses de 5-FU administrées à 3 mois variaient de 1 500 à 3 500 mg/m<sup>2</sup>. La dose a été augmentée de plus de 20 % chez 36 % des patients et diminuée pour 12 % des patients. Donc, lorsque l'on administre le 5-FU en fonction de la surface corporelle, ce qui est toujours le standard à l'heure actuelle, 48 % des patients ne reçoivent pas la bonne dose d'anticancéreux. Ainsi, pour une variation de la dose de plus de 10 %, 82 % des patients sont soit sous- soit sur-dosés.

# En pratique clinique sur un simple prélèvement sanguin

Aujourd'hui, les pratiques tendent à associer suivi thérapeutique pharmacologique et dépistage préalable du déficit en DPD [21, 22, 35]. Selon cette approche, le dépistage préalable du déficit en DPD permettrait d'éviter les toxicités sévères par une réduction de la posologie initiale, et le suivi thérapeutique au décours permettant de réajuster la posologie à la hausse en cas d'exposition insuffisante. Il existe désormais des abaques multiparamétriques (déficit en DPD, physiopathologie, molécules associées...) permettant d'adapter le traitement de cure en cure (5-FU<sup>ODPM</sup> protocole<sup>TM</sup>, France).

# Autres polymorphismes d'intérêt potentiel : TYMS et MTHFR

Outre la DPD, les études les plus avancées ont concerné la TYMS et la MTHFR.

#### Thymidylate synthase

La thymidylate synthase (TYMS) est une cible privilégiée dans la stratégie antitumorale. Elle constitue en effet la seule voie de synthèse de la thymidine, précurseur nucléotidique spécifique de l'ADN, indispensable à sa réplication et aux mécanismes de réparation. La TYMS est ainsi responsable de la transformation par méthylation de la déoxyuridine monophosphate (dUMP) en déoxythymidine monophosphate (dTMP), le méthylènetétrahydrofolate (CH<sub>2</sub>THF) ayant le rôle de cosubstrat en tant que donneur de méthyle. Le dTMP est ensuite phosphorylé en déoxythymidine di- puis tri-phosphate (dTTP), lequel est incorporé dans l'ADN par des enzymes polymérases.

Le 5-FdUMP, métabolite actif du 5-FU, agit donc comme un inhibiteur compétitif d'affinité plus grande, cependant que le substrat naturel dUMP, et formant avec la molécule de TYMS et le méthylènetétrahydrofolate un complexe ternaire stable, le transfert de méthyle étant rendu impossible par la présence de l'atome de fluor en position 5 qui ne peut

être déplacé à la différence de l'atome d'hydrogène.

Compte tenu de son rôle privilégié dans la synthèse et la réparation de l'ADN, la TYMS a fait l'objet de nombreuses recherches dont les principaux résultats peuvent être résumés comme suit :

 la sensibilité in vitro au 5-FU de lignées cellulaires de CCR est inversement corrélée au taux de TYMS et à son niveau d'expression [36];

un des mécanismes de résistance innée ou acquise au 5-FU est l'hyperexpression de la TYMS [37];

- in vivo, la surexpression du gène de la TYMS représenterait un facteur

prédictif de mauvaise réponse au traitement par 5-FU [38] ;

– la protéine TYMS, qui possède des sites de liaison aux acides nu-

- la proteine 1 YMS, qui possede des sites de liaison aux acides nucléiques, joue un rôle de régulation sur son propre ARN messager, ainsi que sur les ARNm de p53 et c-myc entre autres, lui conférant donc une action large au sein de la cellule, par un phénomène de rétrocontrôle négatif selon qu'elle est ou non liée à ses substrats [39];

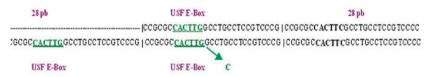
 les conséquences sur l'activité enzymatique d'un certain nombre de polymorphisme au sein du gène de la TYMS passeraient par des niveaux de régulation transcriptionnelle, traductionnelle et posttraductionnelle.

À ce jour, trois principaux polymorphismes ont été individualisés.

Au niveau de la région promotrice (Thymidylate Synthase Enhancer Region ou TSER) qui ne possède pas de TATA Box à l'instar de nombreux gènes impliqués dans le cycle cellulaire, ainsi qu'au niveau de la région 3' non traduite de l'ARNm (3'UTR), il a été décrit un polymorphisme de répétition d'une séquence de 28 paires de bases appelée « R » pour « Répétition ». Cette variation du nombre de séquences « R » de 2 à 9 (le plus grand nombre étant observé dans les populations d'origine africaine) pour chacun des allèles a permis d'individualiser des groupes de patients : soit homozygotes 2R/2R, et 3R/3R, soit hétérozygotes 2R/3R pour les plus fréquentes dans les populations non africaines [40]. In vitro, les études ont montré que l'activité

transcriptionnelle du promoteur comprenant trois séquences de répétition est augmentée par rapport à celle du promoteur en contenant deux [41]. *In vivo*, les données cherchant une corrélation entre ces séquences de répétition et la réponse observée au traitement par 5-FU sont très variables dans leur méthodologie (étude du génome tumoral ou non, de l'ARNm, de l'activité enzymatique, cohortes de faibles effectifs, modalités différentes de traitement associant parfois d'autres cytotoxiques dont la cible n'est pas la TYMS, cancers de type et de stade variés...) et dans leurs résultats souvent contradictoires [42, 43].

Un polymorphisme nucléotidique (G>C) surajouté et situé dans la deuxième région de répétition de l'allèle 3R a été individualisé il y a environ 7 ans. *In vitro*, des études utilisant différents plasmides de transfection ont ainsi pu montrer, dans le cas d'une séquence sauvage « 3G » (la plus fréquente dans la population caucasienne, environ 56 %), une meilleure efficacité de la traduction comme de la transcription [44]. Pour cette dernière, la modulation serait liée à l'abolition d'un site de fixation pour un facteur transcriptionnel USF-1 dans le cas de la mutation « 3C » (fig. 1). L'existence de cette mutation surajoutée pourrait rendre compte des résultats contradictoires soulignés plus haut, et son individualisation permettre, couplée au polymorphisme de répétition et au vu des études de transfection, de redéfinir la distribution des patients selon une expression prédictive de la TYMS dite « haute » ou « basse » sur des critères purement génétiques. Une nouvelle répartition a ainsi été proposée par l'équipe de Kawakami en 2003 [44] détaillée dans le tableau III. *In vivo*, deux études rétrospectives, étudiant l'ADN tumoral pour la première (258 patients) et l'ADN germinal sur leucocytes circulants pour la seconde (89 patients), ont retrouvé une corrélation statistiquement significative entre cette distribution et la survie globale de patients porteurs de CCR traités par 5-FU avec un avantage pour les groupes à expression « basse » [44, 45].



**Fig. 1** – Séquences de répétition de 28 pb au sein de la région promotrice du gène de la TYMS. Le site de fixation E-Box pour le facteur de transcription USF-1 est souligné (d'après Mandola et al. [46]).

Enfin, il existe un dernier polymorphisme à type d'insertion-délétion de 6 paires de bases situé 477 pb après le codon « Stop ». L'allèle portant la délétion est présent chez 27 % des caucasiens, avec de grandes variations interethniques. Il est associé à une diminution de stabilité de l'ARNm TYMS in vitro ainsi qu'à une baisse de l'expression de la TYMS intratumorale in vivo [46].

« Haute » expression	« Basse » expression
2R / 2R	2R / 3Rg
2R / 3Rc	3Rc / 3Rg
3R / 3Rc	3Rg / 3Rg

**Tableau III** – Expression prévisible de la TYMS selon la combinaison de la mutation C>G et du polymorphisme.

#### Méthylène tétrahydrofolate réductase

La méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) tient un rôle essentiel dans le cycle des folates et la synthèse du S-adénosylméthinine (SAM), donneur cellulaire universel du groupement méthyle en convertissant de façon irréversible le 5-10 méthylène tétrahydrofolate (CH<sub>2</sub>FH<sub>2</sub>) en 5-méthyltétrahydrofolate (CH<sub>2</sub>FH<sub>2</sub>). Elle se situe donc à l'interface entre la voie de synthèse de la thymidine et celle de la méthionine, indispensable à la synthèse protéique, au cycle cellulaire et à la méthylation de l'ADN (fig. 2). La modulation de l'efficacité du 5-FU par l'acide folinique, précurseur du CH<sub>2</sub>FH<sub>4</sub>, par stabilisation du complexe ternaire formé avec la TYMS, a été clairement démontrée. Le rôle clé de la MTH-FR dans la concentration intracellulaire de folates explique l'attention portée sur cette enzyme comme cible de recherche pour l'optimisation des traitements par le fluorouracile. Son gène est localisé en 1p36.3 et comporte 11 exons. Sa région promotrice ne comprend pas de TATA Box mais de nombreux îlots CpG, comme pour la TYMS, et de multiples sites de liaisons avec SP1 transactivateur ubiquitaire. 44 mutations

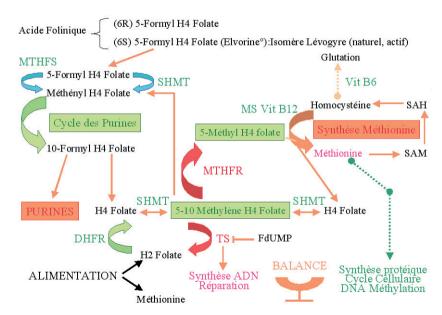


Fig. 2 – Balance entre les voies de synthèse de la méthionine et de la thymidine.

ont été répertoriées en 2004 dont 37 induisant un déficit enzymatique sévère (inférieur à 20 % de la normale) associé à une hyperhomocystéinémie, des thromboses, des anomalies neurologiques et une prédisposition au cancer par hypométhylation de l'ADN. Les deux mutations les plus fréquentes (environ 15 % et 12 % respectivement pour les homozygotes dans la population caucasienne) et les plus étudiées sont les polymorphismes nucléotidiques 677 C>T (diminution de 75 % de l'activité pour les homozygotes) et 1298 A>C (diminution de 30 %). *In vitro*, des études relativement récentes ont fait la preuve du concept de la majoration des effets des fluoropyrimidines en cas de génotype MTHFR muté [47]. In vivo, peu d'études et sur de faibles effectifs ont évalué ce lien [48-50]. Néanmoins, ces différents travaux ont montré des réponses au traitement par 5-FU pour la plupart significativement différentes en fonction du polymorphisme de la MTHFR, essentiellement pour la mutation 677 C>T avec un bénéfice observé dans ce cas. En revanche, en dehors de l'étude chinoise de Lu *et al.* concernant des patients porteurs d'un cancer de l'estomac, il n'a pas été mis en évidence de différence en termes de toxicités [51]. Les données sur les survies sans progression et les survies globales sont encore plus fragmentaires. Il n'a pas été rapporté de différence significative sur ce point selon le polymorphisme 677 C>T, mais les travaux de Etienne et al. observent paradoxalement une survie écourtée dans le cas des homozygotes mutés en 1298 [48]. Ce résultat est possiblement en rapport avec une croissance tumorale plus rapide du fait d'une synthèse de thymidine plus efficace et/ou du fait de phénomènes d'hypométhylation de l'ADN.

## Exemple d'application en pratique clinique courante

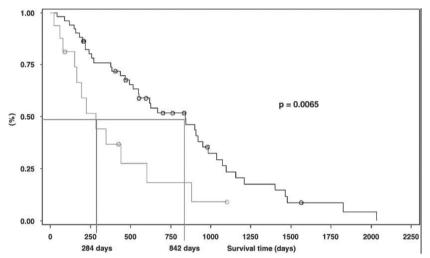
Une étude rétrospective menée dans notre institution a cherché à analyser simultanément les impacts thérapeutiques respectifs des polymorphismes de la TYMS et MTHFR chez 76 patients porteurs d'un CCR métastatique et traités par 5-FU en monothérapie (LV5-FU2 ou FUFOL 8 h hebdomadaire) pharmacocinétiquement piloté [52].

La répartition du génotype de la région promotrice TYMS correspondait aux données de la littérature : 18,4 % 2R/2R, 51,3 % 2R/3R, 30,3 % 3R/3R. La distribution des génotypes de MTHFR était en accord avec la loi d'équilibre de Hardy-Weinberg : 9,2 % d'homozygotes mutés pour 1298 A>C et 10,6 % pour 677 C>T.

La prise en compte de facteurs prédictifs de toxicité au 5-FU, avec la recherche systématique des mutations de la DPD couplée au rapport UH<sub>2</sub>/U, a permis d'isoler neuf patients à risque, soit 11,8 % de la population initiale. Trois d'entre eux avaient une mutation connue et six un rapport UH<sub>2</sub>/U altéré.

Une toxicité n'était rapportée que 66 fois et de faible gravité (76 % de grade I-II) : 22 % de diarrhées, 18 % de syndrome mains-pieds et 7,5 % de mucite. Le taux de réponse objective était de 33 % (dont 6,6 % de réponse complète) et la survie globale médiane était de 20 mois. Les génotypes « haute » ou « basse » expression de la TYMS, ou selon les mutations de

la MTHFR, n'étaient pas discriminants. En revanche, la comparaison des courbes de survie globale entre la population 3R/3R et la population porteur d'au moins un allèle 2R était hautement significative (p=0,0066): médiane de survie globale à 270 jours et 844 jours respectivement. Partant de ce constat et du rôle connu de la MTHFR sur le taux intracellulaire de folates (et donc sur la modulation d'activité du 5-FU), nous avons cherché à isoler une population à risque de survie plus courte : la combinaison 3R/3R pour la TYMS et sauvage pour MTHFR 1298 A>C ou 677 C>T vs tout autre génotype (fig. 3). La médiane de survie était retrouvée à 283 jours pour cette population contre 842 jours pour l'autre (p=0,0065). Cette population à risque ainsi isolée (16 patients sur 67=23,9 %, soit presque un quart de la cohorte étudiée) pourrait faire l'objet d'une prise en charge spécifique dans le cadre d'une étude prospective.



**Fig. 3** – Survie globale en analyse univariée en fonction du statut 3R/3R pour la TYMS et du génotype A/A pour MTHFR 1298 A4C ou 3R/3R pour la TYMS et du génotype C/C pour MTHFR 677C4T (16/67 patients = 23,9 %) (courbe grise) et tout autres génotypes (courbe noire). D'après Capitain *et al.* [52].

Finalement, cette étude, parmi d'autres, démontre qu'une analyse pharmacogénétique sur leucocytes circulants permet de façon simple et reproductible d'isoler une population de mauvais pronostic (3R/3R pour la TYMS et homozygote sauvage pour 1298 A>C ou 677 C>T de la MTHFR), population qui pourrait justifier d'une prise en charge thérapeutique intensifié. Le retentissement de résultats de pharmacogénétique sur la pratique clinique peut être majeur pour le malade comme pour le thérapeute.

#### Références

- Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S et al. (1993) Ubiquitous somatic mutations in simple repeatedd sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. Nature 363: 558-61
- Boland CR, Goel A (2010) Microsatellite instability in colorectal cancer. Gastroenterology 138: 2073-87

- 3. Lindor NM, Burgat LJ, Leontovich O *et al.* (2002) Immunohistochemistry versus mcrosatellite instability testing in phenotyping colorectal cancer tumors. J Clin Oncol 20: 1043-8
- Umar A, Boland CR, Terdiman JP et al. (2004) Revised Bethesda Guidelines for héréditaire nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. J Natl Cancer Inst 96: 261-8
- Popat S, Hubner R, Houlston RS (2005) Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. J Clin Oncol 23: 609-18
- Kim GP, Marsoni S, Monges G et al. (2010) Analysis of time-dépendent patterns of treatment effect and failure to explain the predictive role of deficient mismatch repair (dMMR) in stage II and III colon cancer (CC). J Clin Oncol 28 (Suppl 15S): abstr 3518
- 7. Sargent DJ, Marsoni S, Monges G (2010) Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. J Clin Oncol 28: 3219-26
- 8. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ *et al.* (2003) Tumor microsatellite instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. N Engl J Med 349: 247-57
- Guastadisegni C, Colafranceschi M, Ottini L, Dogliotti E (2010) Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: a meta-analysis of colorectal cancer survival data. Eur J Cancer 46: 2788-98
- Andre T, Boni C, Navarro M et al. (2009) Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. J Clin Oncol 27: 3109-16
- 11. Nan A, Meunier K, Sangar F et al. (2011) Microsatellite instability in colorectal cancer: from molecular oncogenic mechanisms to clinical implications. Cell Oncol 34: 155-76
- Douillard JY, Cunningham D, Roth AD et al. (2000) Irinotécan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. Lancet 355: 1041-7
- 13. De Gramont A, Figer A, Seymour M *et al.* (2000) Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. J Clin Oncol 18: 2938-47
- 14. Diasio RB, Beavers TL, Carpenter JT (1988) Familial deficiency of dihydropyrimidine dehydrogenase (biochemical basis for familial pyrimidinemia and severe 5-fluorouracil-induced toxicity). J Clin Invest 81: 47-51
- 15. Tuchman M, Stoeckeler JS, Kiang DT et al. (1985) Familial pyrimidinemia and pyrimidinuria associated with severe fluorouracil toxicity. New Engl J Med 313: 245-9
- 16. Diasio RB, Beavers TL, Carpenter JT (1988) Familial deficiency of dihydropyrimidine dehydrogenase (biochemical basis for familial pyrimidinemia and severe 5-fluorouracil -induced toxicity). J Clin Invest 81: 47-51
- 17. Lu Z, Zhang R, Diasio RB (1993) Dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human peripheral blood mononuclear cells and liver: population characteristics, newly identified deficient patients, and clinical implication in -fluorouracil chemotherapy. Cancer Res 53: 5433-8
- 18. Johnson MR, Hageboutros A, Wang K (1999) Life-threatening toxicity in a dihydropyrimidine dehydrogenase deficient patient after treatment with topical 5-Fluorouracil. Clin Canc Res 5: 2006-11
- 19. 19 Van Kuilenburg ABP, Vreken P, Abeling NG *et al.* (1999) Genotype and phenotype in patients with dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. Hum Genet 104: 1-9
- Van Kuilenburg ABP, Abreu R, Van Gennip A (2003) Pharmacogenetic and clinical aspects of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. Ann Clin Biochem 40: 41-5
- 21. Boisdron-Celle M, Remaud G, Traore S *et al.* (2007) 5-Fluororuacil-related severe toxicity: A comparison of different methods for the pretherapeutic detection of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. Cancer Letters 40: 11-7

- 22. Boisdron Celle M, Capitain O, Metges JP et al. (2012) Severe Fluoropyrimidines toxicities: a simple and effective way to avoid them. Screen effectively for DPD deficiencies. Ann Oncol 23 (Suppl 4): abstract O 19 (ESMO GI, Barcelone, 27-29 Juin)
- 23. Van Gennip AH, Van Bree-Blom EJ, Wadman SK *et al.* (1982) HPLC of urinary pyrimidines for the evaluation of primary and secondary abnormalities of pyrimidine metabolism. In: Hawk GL, ed. Biological biomedical applications of liquid chromatography. Marcel Dekker Inc, New York and Basel, p 285-96
- Remaud G, Boisdron-Celle M, Hameline C et al. (2005) An accurate Dihydrouracil/Uracil determination using improved High Performance Liquid Chromatography method for preventing fluoropyrimidines-related toxicity in clinical practice. J Chromatogr B 823: 98-107
- 25. Gamelin E, Boisdron-Celle M, Guérin-Meyer V et al. (1999) Correlation between uracil and dihydrouracil plasma ratio, and 5-fluorouracil pharmacokinetic parameters and tolerance in patients with advanced colorectal cancer. A potential interest for predicting 5-FU toxicity and for determining optimal 5-FU dosage J Clin Oncol 17: 1105-10
- Van Kuilenburg ABP, Muller EW, Haasjes J et al. (2001) Lethal outcome of a patient
  with a complete dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency after administration of 5-Fluorouracil: frequency of the common IVS14+1G>A mutation causing
  DPD deficiency. Clin Canc Res 7: 1149-53
- Traoré S, Boisdron-Celle M, Hunault G et al. (2012) DPD deficiency: Medicoeconomic evaluation of pre-treatment screening of 5-FU toxicity. ASCO GI, San Francisco, January 19-21
- 28. Trump DL, Egorin MJ, Forrest A *et al.* (1991) Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of fluorouracil during 72-hour continuous infusion with and without dipyridamole. J Clin Oncol 9: 2027-35
- Fleming RA, Milano GA, Etienne MC et al. (1992) No effect of dose, hepatic function, or nutritional status on 5-FU clearance following continuous (5-day), 5-FU infusion. Br J Cancer 66: 668-72
- Morel A, Boisdron-Celle M, Fey L et al. (2006) Clinical relevance of different dihydropyrimidine dehydrogenase gene single nucleotide polymorphisms on 5-fluorouracil tolerance. Mol Cancer Ther 5: 2895-904
- Tuchman M, Stoeckeler JS, Kiang DT (1985) Familial pyrimidinemia and pyrimidinuria associated with severe fluorouracil toxicity. N Engl J Med 313: 245-9
- 32. Harris BE, Song R, Soong SJ, Diasio RB (1990) Relationship between dihydropyrimidine dehydrogenase activity and plasma 5-fluorouracil levels with evidence for circadian variation of enzyme activity and plasma drug levels in cancer patients receiving 5-fluorouracil by protracted continuous infusion. Cancer Res 50: 197-201
- de Gramont A, Bosset JF, Milan C et al. (1997) 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 15: 808-15
- 34. Gamelin E, Delva R, Jacob J (2008) 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 26: 2099-105
- Capitain O, Asevoaia A, Boisdron-Celle M et al. (2012) Individual Fluorouracil Dose Adjustment in FOLFOX Based on Pharmacokinetic Follow-Up Compared With Conventional Body-Area-Surface Dosing: A Phase II, Proof-of-Concept Study. Clin Colorectal Cancer (in press)
- Johnston PG, Drake JC, Trepel J et al. (1992) Immunological quantitation of thymidylate synthase using the monoclonal antibody TS 106 in 5-fluorouracile-sensitive and –resistant h cancer cell lines. Cancer Res 52: 4306-12

- 37. Banerjee D, Mayer-Kuckuk P, Capiaux G *et al.* (2002) Novel aspects of resistance to drugs targeted to dihydrofolate reductase and thymidylate synthase. Biochim Biophys Acta 2-3: 164-73
- 38. Johnston PG, Lenz HJ, Leichman CG *et al.* (1995) Thymidylate synthase gene and protein expression correlate and are associated with response to 5-fluorouracile in human colorectal and gastric tumors. Cancer Res 55: 1407-12
- 39. Chu E, Allegra CJ (1996) The role of thymidylate synthase in cellular regulation. Advan Enzyme Regul 36: 143-63
- 40. Marsh S, Ameyaw MM, Githang'a J et al. (2000) Novel thymidylate synthase enhancer region alleles in African populations. Hum Mutat 16: 528-33
- 41. Kawakami K, Salonga D, Park JM *et al.* (2001) Different lengths of a polymorphic repeat sequence in the thymidylate synthase gene affect translational efficiency but not its gene expression. Clin Cancer Res 7: 4096-101
- 42. Pullarkat ŠT, Stoehlmacher J, Ghaderi V *et al.* (2001) Thymidylate synthase gene polymorphism determines response and toxicity of 5-FU chemotherapy. Pharmacogenomics J 1: 65-70
- 43. Īacopetta B, Grieu F, Joseph D, Elsaleh H (2001) A polymorphism in the enhancer region of the thymidylate synthase promoter influences the survival of colorectal cancer patients treated with 5-fluorouracile. Br J Cancer 85: 827-30
- 44. Kawakami K, Watanabe G (2003) Identification and functional analysis of single nucleotide polymorphism in the tandem repeat sequence of thymidylate synthase gene. Cancer Res 63: 6004-7
- 45. Marcuello E, Altes A, Del Rio E *et al.* (2004) Single nucleotide polymorphism in the 5' tandem repeat sequences of thymidylate synthase gene predicts for response to fluorouracile-based chemotherapy in advanced colorectal cancer patients. Int J Cancer 112: 733-7
- 46. Mandola MV, Stoehlmacher J, Zhang W *et al.* (2004) A 6 pb polymorphism in the thymidylate synthase gene causes message instability and is associated with decreased intratumoral TS mRNA levels. Pharmacogenetics 14: 319-27
- Sohn KJ, Croxford R, Yates Z et al. (2004) Effect of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism on chemosensitivity of colon and breast cancer cells to 5-fluorouracile and methotrexate. J Natl Cancer Inst 96: 134-44
- Cohen V, Panet-Raymond V, Sabbaghian N et al. (2003) Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in advanced colorectal cancer: a novel genomic predictor of clinical response to fluoropyrimidine-based chemotherapy. Clin Cancer Res 9: 1611-5
- Etienne MC, Formento JL, Chazal M et al. (2004) Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and response to fluorouracile-based treatment in advanced colorectal cancer patients. Pharmacogenetics 14: 1-8
- 50. Jakobsen A, Nielsen JN, Gyldenkerne N, Lindeberg J (2005) Thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in normal tissue as predictors of fluorouracile sensitivity. J Clin Oncol 23: 1365-9
- 51. Lu JW, Gao CM, Wu JZ *et al.* (2004) Relationship of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and chemosensitivity to 5-fluorouracile in gastric carcinoma. Chinese J Cancer 23: 958-62
- 52. Capitain O, Boisdron-Celle M, Poirier AL *et al.* (2008) The influence of fluorouracil outcome parameters on tolerance and efficacy in patients with advanced colorectal cancer. Pharmacogenomics J 8: 256-67



http://www.springer.com/978-2-8178-0426-2

Médecine personnalisée en cancérologie digestive Vers un traitement à la carte (Eds.)O. Bouché; P. Laurent-Puig 2014, Env. 250 p. 20 ill., Softcover

ISBN: 978-2-8178-0426-2