



PROTOCOLO

Artículo bilingüe inglés/español

Determinación de variantes de riesgo del DPYD en pacientes candidatos a tratamiento con fluoropirimidinas: protocolo de estudio

DPYD variant testing in candidates for fluoropyrimidine treatment: A study protocol

Ana Hernández-Guío¹, M.ª Ángeles Bernabéu-Martínez¹,
Andrés Corno-Caparrós², M.ª Teresa Aznar-Saliente¹, Manuel Bonete-Sánchez¹,
Miguel Ángel Calleja-Hernández³

¹Servicio de Farmacia, Hospital Universitario San Juan de Alicante, Alicante. España. ²Departamento de Farmacología, Universidad Miguel Hernández, Elche. España. ³Servicio de Farmacia, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla. España.

Autor para correspondencia

Ana Hernández Guío
Ctra. N-332, s/n
03550 Sant Joan d'Alacant (Alicante).
España.

Correo electrónico:
ana.hernandez.ahg@gmail.com

Recibido el 24 de noviembre de 2020;
aceptado el 2 de enero de 2021.

DOI: 10.7399/fh.11607

Cómo citar este trabajo

- Hernández-Guío A, Bernabéu-Martínez MA, Corno-Caparrós A, Aznar-Saliente MT, Bonete-Sánchez M, Calleja-Hernández MA.
- Determinación de variantes de riesgo del DPYD en pacientes candidatos a tratamiento con fluoropirimidinas: protocolo de estudio.
- Farm Hosp. 2021;45(3):155-9.

Resumen

Objetivo: El objetivo principal es evaluar el impacto clínico de la implementación de la farmacogenética en la reducción de toxicidad en pacientes tratados con fluoropirimidinas, comparando frecuencia y grado de toxicidad con una población de las mismas características, pero sin orientación farmacogenética, y demostrando que la disponibilidad de un informe farmacogenético previo al inicio del tratamiento tiene influencia positiva. Uno de los principales objetivos secundarios es analizar la frecuencia y la asociación del polimorfismo con toxicidad de rs895819 en MIR27A y DPYD*6, mediante un estudio observacional, para determinar su relevancia clínica y poder estandarizar una recomendación de ajuste de dosis.

Método: Estudio con diseño ambispectivo, cuasi-experimental, unicéntrico, llevado a cabo mediante un protocolo de actuación multidisciplinar, a través del cual se implantará la determinación de DPYD*2A, DPYD*13, c.2846A>T, HapB3, se estandarizará y se realizará el consejo farmacogenético y posteriormente se evaluará su impacto clínico. La variable principal es la toxicidad severa y/o mortalidad. Se compararán dos grupos con características epidemiológicas similares, grupo intervención

Abstract

Objective: The main purpose of this study is to evaluate the potential clinical impact of pharmacogenetic testing on the reduction of the toxicity in patients treated with fluoropyrimidines. This will be achieved by comparing the frequency of adverse events and the incidence of toxicity of two groups of patients that will differ from each other only in that one will receive pharmacogenetic counseling. The hypothesis is that availability of a pharmacogenetic report prior to treatment initiation has a positive effect. One of the main secondary goals is to analyze allele frequencies and the association of polymorphisms rs895819 (miR27A) and rs1801160 (DPYD*6) with toxicity by conducting an observational study to determine their clinical relevance and standardize a dose adjustment recommendation.

Method: The study has a single-center ambispective, quasi-experimental design and is based on a multidisciplinary protocol involving implementation and standardization of DPYD*2A; DPYD*13; c.2846A>T; and HapB3 measurements. Following these measurements, pharmacogenetic counseling will be carried out and its clinical impact will be evaluated. The primary endpoint of the study is severe toxicity and/or mortality. The toxicity observed in two groups with similar epidemiological characteristics will be

PALABRAS CLAVE

Protocolos clínicos; Medicina de precisión; Fluoropirimidinas; Farmacogenética; Toxicidad; Polimorfismos genéticos; DPYD; Dihidropirimidina deshidrogenasa.

KEYWORDS

Clinical protocols; Precision medicine; Fluoropyrimidines; Pharmacogenetics; Toxicity; Genetic polymorphism; DPYD; Dihydropyrimidine dehydrogenase.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia
Articles published in this journal are licensed with a
Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License.
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>
La revista Farmacia no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco por la publicación de sus artículos.

(pacientes candidatos a tratamiento con fluoropirimidinas y sobre los que se implantará el protocolo) y grupo control (cohorte retrospectiva). Por otra parte, se determinará rs895819 en MIR27A y DPYD*6, estas variantes no forman parte de la práctica diaria del hospital ni están contempladas en guías clínicas, pero según estudios publicados recientemente, pueden afectar a la actividad de la enzima y estar asociados con toxicidad. Los resultados de estas dos variantes no intervendrán en el consejo farmacogenético hasta determinar su asociación con la toxicidad, precisamente mediante el estudio observacional que se llevará a cabo. Tanto el proyecto como la hoja de información al paciente y el consentimiento informado han sido aprobados por el Comité Ético del centro participante, código: 20/006.

Introducción

Antecedentes

Aproximadamente el 30% de los pacientes en tratamiento con fluoropirimidinas desarrollan toxicidades severas (Common Terminology Criteria for Adverse Events [CTCAE] v5.0, grado ≥ 3) y a veces mortales^{1,9}.

La dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD) es la enzima limitante del catabolismo de las fluoropirimidinas, metaboliza al menos el 80% de la dosis de 5-fluorouracilo^{1,5,8,10,11}. Si la actividad de la enzima se ve afectada, se acumula metabolito activo provocando toxicidad severa que puede llegar a ser mortal^{1,3,8,10,12-14}.

DPYD es el gen que codifica para la DPD. Se han estudiado numerosas variantes, pero las guías clínicas concluyen que son cuatro las que reducen la actividad de la enzima de forma clínicamente relevante y pueden ser implementadas en la práctica clínica: c.190511G> A (DPYD * 2A), c.1679T> G (DPYD * 13), c.2846A> T y c.1129-5923C> G (HapB3)^{1,3,5,7}. Las recomendaciones de las guías y de las agencias reguladoras sanitarias van dirigidas a estas cuatro variantes¹⁵.

Sin embargo, existe cierta variabilidad entre el genotipo DPYD y el fenotipo DPD. Por tanto, es necesario estudiar nuevas variantes asociadas a toxicidad, ya que esta variabilidad se podría explicar por otros polimorfismos menos estudiados como rs1801160 DPYD*6^{7,10,14,16} o también por la regulación de la DPD a nivel postranscripcional. El polimorfismo A>G rs895819 en MIR27A se asocia con una disminución de la actividad de la DPD^{2,16}.

Justificación

Es necesario realizar la determinación de las cuatro variantes del DPYD y el ajuste de dosis como práctica clínica habitual previamente al inicio de tratamiento, ya que puede reducir el riesgo de toxicidad potencialmente mortal^{1,11}.

La implantación de estas determinaciones podría ser una herramienta útil, siempre y cuando se demuestre que la disponibilidad de un informe farmacogenético previo al inicio tiene influencia positiva, por lo que es relevante valorar el impacto clínico de estas determinaciones en este contexto.

Por otra parte, existe un porcentaje de toxicidad que no puede explicarse por estas cuatro variantes^{10,14}. Por este motivo, se decide determinar DPYD*6 y rs895819 en MIR27A. No forman parte de la práctica diaria del hospital ni están contemplados en guías clínicas, pero según los estudios publicados recientemente, pueden afectar a la actividad de la enzima y estar asociados con toxicidad. Su análisis podría mejorar el valor predictivo de estas pruebas.

Hipótesis y objetivos del estudio

La implantación de la farmacogenética en la práctica clínica habitual, mediante un protocolo consensuado de actuación multidisciplinar, disminuye la toxicidad en los pacientes tratados con fluoropirimidinas.

El objetivo general del estudio es evaluar el impacto clínico de la implementación de la farmacogenética en la reducción de toxicidad en pacientes tratados con fluoropirimidinas, comparando frecuencia y grado de efectos adversos con una población de las mismas características y tratamiento, pero sin orientación farmacogenética, y demostrando que la disponibilidad

comparado: the intervention group (candidates for treatment with fluoropyrimidines who will be subjected to the protocol) and the control group (retrospective cohort). Additionally, rs895819 (MIR27A) and rs1801160 (DPYD*6) will be determined. Testing for these variants is not part of the hospital's daily practice, nor are they included in clinical guidelines. However, according to recently published studies, the activity of dihydropyrimidine dehydrogenase might be affected by these variants, as they may be associated with toxicity. The results of the measurements of these two variants will not be incorporated to pharmacogenetics counseling until their association with toxicity is determined by means of the observational study to be conducted. The project, as well as the patient information sheet and the informed consent form, were approved by the Ethics Committee of the participating center (code 20/006).

de un informe farmacogenético previo al inicio del tratamiento tiene beneficio sobre el paciente.

Los objetivos específicos incluyen: describir metodología, procedimientos, documentación y material necesario para la implementación de las determinaciones en la práctica diaria; analizar frecuencias alélicas de los polimorfismos del DPYD de interés establecido en guías clínicas; realizar un estudio observacional de rs895819 en MIR27A y DPYD*6, analizar frecuencias y valorar la asociación del polimorfismo con toxicidad, para determinar su relevancia clínica y poder estandarizar una recomendación de ajuste de dosis según los resultados obtenidos; medir la frecuencia de intervención farmacogenética y el grado de aceptación por parte del oncólogo; describir la prevalencia de toxicidad, según el grado de efecto adverso y evaluar la satisfacción del servicio de oncología con los informes farmacogenéticos recibidos y la implantación del programa.

Métodos

Diseño

Estudio ambispectivo, cuasi-experimental, unicéntrico, que se lleva a cabo mediante la implantación de un protocolo coordinado entre los Servicios de Farmacia, Oncología Médica, Laboratorio propio y Laboratorio externo. A través de este protocolo se implantará la determinación de las variantes genéticas, se estandarizará y se implantará el consejo farmacogenético y posteriormente se evaluará su impacto clínico.

Variantes genéticas a determinar

Se incorporará a la práctica clínica diaria del hospital, la determinación de los cuatro polimorfismos contemplados en guías clínicas: DPYD*2A, DPYD*13, c.2846A>T, HapB3 y el consejo farmacogenético derivado de esta determinación.

Además, se decide investigar dos variantes genéticas: MIR27A (rs895819) y DPYD*6. Los resultados de estas dos no intervendrán en el consejo farmacogenético hasta determinar su asociación con toxicidad, precisamente mediante el estudio observacional que se propone.

Ámbito de aplicación

Pacientes con previsión de iniciar tratamiento con fluoropirimidinas o que lo iniciaron a partir del 1 de enero de 2019.

VARIABLES

La variable principal es la toxicidad grado ≥ 3 y/o mortalidad. Entre las variables secundarias se incluyen sociodemográficas, diagnóstico, estado funcional, esquema de tratamiento, paciente *naïve*, polimorfismo (solo en grupo intervención [GI]), genotipo (GI), necesidad de ajuste de dosis y en caso afirmativo porcentaje (%) (GI), individualización de dosis y en caso afirmativo % (GI), % aceptación de la recomendación (GI), toxicidad, tipo de toxicidad, ciclo en el que aparece toxicidad, grado de toxicidad, reducción de dosis, suspensión del fármaco, ingreso, *exitus*, valoración mediante una encuesta sin validar de la satisfacción del Servicio de Oncología con la información farmacogenética recibida y la implantación del programa.

Criterios de inclusión y exclusión

Se incluirán todos los pacientes adultos con cualquier tipo de tumor, con previsión de iniciar tratamiento quimioterápico con fluoropirimidinas, o ya iniciado en el caso del grupo control (GC), y sin haber recibido ninguna línea previa con fluoropirimidinas, que acepten participar.

Se excluirán aquellos pacientes que no tengan disponibles las variables del estudio necesarias para la recogida de datos y posterior comparación de los mismos; pacientes que decidan no participar y pacientes con capacidad de comprensión limitada para la firma del consentimiento informado.

Tamaño muestral

Para el cálculo del tamaño muestral partimos de que el 30% de los pacientes en tratamiento con fluoropirimidinas presentan toxicidad grado ≥ 3 ^{4,6,8}.

Con esta premisa, y estimando que tras la implantación de la farmacogenética la toxicidad grado ≥ 3 se redujera 10 puntos porcentuales, es decir, a un 20%, el tamaño muestral calculado es de 324 pacientes.

Grupos de estudio

Los pacientes se repartirán en dos grupos con características epidemiológicas similares, 162 GI y 162 GC.

El GI estará compuesto por pacientes candidatos a iniciar tratamiento con fluoropirimidinas (agente único o en combinación) y sobre los cuales se implantará el protocolo farmacogenético. Se reclutarán secuencialmente hasta completar el tamaño muestral. La intervención realizada será el análisis genético de una muestra sanguínea para conocer la existencia o no de las mutaciones y la emisión de un informe farmacogenético con los resultados y recomendaciones de dosificación.

El GC se obtendrá retrospectivamente, mediante la revisión de las historias clínicas de pacientes que recibieron al menos un ciclo de fluoropirimidinas en un periodo anterior a la disponibilidad del protocolo farmacogenético. Se incluirán secuencialmente todos los pacientes que iniciaron fluoropirimidinas desde el 1 de enero de 2019.

Determinaciones genéticas

Las determinaciones genéticas se realizarán antes del inicio de la quimioterapia, para individualizar el tratamiento según el resultado.

Las extracciones sanguíneas se realizarán entre semana y las muestras se conservarán en el laboratorio del hospital hasta la determinación, que se realizará en un laboratorio externo, un día a la semana.

La descripción del proceso se detalla en la figura 1.

El reclutamiento de los pacientes se realizará siguiendo el orden de la consulta de oncología. El oncólogo, una vez decidido el tratamiento con fluoropirimidinas, solicitará la determinación del DPYD, seleccionando la prueba "Determinación DPYD" en el sistema informático corporativo.

Dado que habitualmente los pacientes precisan de una analítica ordinaria antes de iniciar la quimioterapia, se aprovechará dicha extracción para la determinación, evitando realizar una extracción adicional al paciente.

Siguiendo el mismo circuito que la analítica ordinaria, se recibirá la muestra en el laboratorio del hospital, donde se conservará el tubo para la determinación.

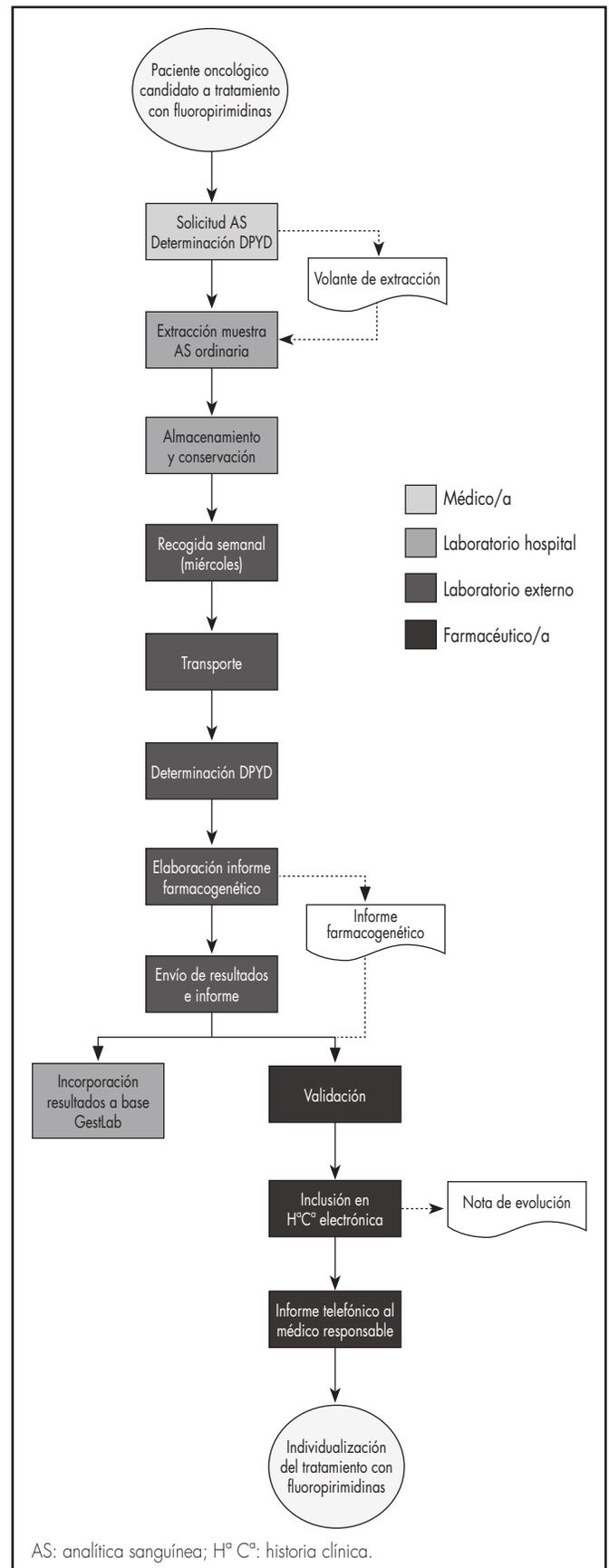
Un día a la semana, previamente acordado con los servicios implicados, se recogerán las muestras acumuladas durante la semana y se trasladarán al laboratorio externo.

El análisis de las muestras comenzará la misma tarde y los resultados estarán disponibles a la mañana siguiente, transcurriendo menos de 24 horas desde la recogida de las muestras hasta la disponibilidad de los resultados. Por tanto, la realización de estas pruebas no demorará en exceso el inicio de la quimioterapia.

Una vez obtenidos los resultados, el laboratorio externo los enviará a la investigadora principal (IP) del proyecto y a los Servicios de Farmacia y Laboratorio. El envío de los resultados se realizará mediante un informe farmacogenético estandarizado, previamente definido y elaborado por la IP y el responsable del laboratorio externo. En él se describirán los resultados, su interpretación, los comentarios y las recomendaciones de ajuste de dosis.

El Servicio de Farmacia/IP validará el informe y lo incorporará a la historia clínica informatizada mediante una nota de evolución de consultas

Figura 1. Diagrama del proceso de determinación DPYD.



externas de oncología. Además, informará telefónicamente al oncólogo responsable.

Técnica de la determinación

Primero se realizará la extracción y purificación de ADN genómico a partir de sangre total en EDTA obtenida por venopunción y determinación de concentración y pureza espectrofotométricamente, después se realizará el genotipado de las seis variantes por PCR en tiempo real con sondas TaqMan Drug Metabolism Enzymes validadas en 180 individuos de cuatro etnias diferentes que proporcionan una señal robusta y reproducible en termociclador Step One (Applied Biosystems) programa: Hold 95 °C -10' y 40 ciclos 95°-15" y 60°-90" en 10 µl de volumen de reacción y finalmente se realizará el análisis de resultados con *software* StepOne v2.3.

Recogida de datos

La recogida de datos se realizará completando una hoja de recogida previamente establecida que contiene categorizadas las toxicidades esperables además de un apartado para otras toxicidades. En ambos grupos se recogerán las mismas variables previamente descritas. De este modo, se estandarizará la recogida de datos para minimizar sesgos y maximizar la calidad y fiabilidad de los registros.

En ambos grupos, la toxicidad siempre la evaluará y clasificará el oncólogo siguiendo criterios CTCAE v5.0. Se monitorizará la toxicidad desde el primer ciclo de tratamiento hasta el sexto.

Para anonimizar los datos de los pacientes, una vez incluidos en el estudio, se les asignará un número interno de identificación.

Consideraciones éticas

Tanto el proyecto como la hoja de información al paciente y el consentimiento informado han sido aprobados por el Comité Ético del centro participante, código: 20/006.

En el grupo control, dado que se tratará de un estudio retrospectivo y se limitará a extraer de la historia clínica los datos de toxicidad y tratamiento (datos disociados y anonimizados), el Comité Ético del centro concedió la exención de la obligación de tener el consentimiento informado de estos pacientes, por la dificultad de cumplimentarlo de acuerdo con "Las pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos CIOMS/OMS".

Análisis estadístico

Se realizará un análisis descriptivo de las variables mediante cálculo de frecuencias para las cualitativas, y valores mínimo, máximo, medio y desviación estándar para las cuantitativas.

Se analizarán los factores asociados a la presencia de toxicidad mediante tablas de contingencia, aplicando el test chi-cuadrado para las variables cualitativas, y comparación de valores medios para las cuantitativas, aplicando el test T de *student*.

Para estimar las magnitudes de las asociaciones con presencia de toxicidad, se ajustarán modelos logísticos multivariantes. Se estimarán las *odds ratios*, junto con sus intervalos de confianza al 95%. Se realizará un procedimiento de selección de variables *stepwise* basado en el *Akaike Information Criterion*. Se mostrarán indicadores de bondad de ajuste e indicadores predictivos. Los análisis se realizarán mediante el programa SPSS v.26 y el programa R v.3.6.1.

Discusión

Se espera comparar las frecuencias alélicas de pacientes heterocigotos portadores de una variante "clásica" del DPYD de función disminuida en nuestro ámbito con las descritas en la bibliografía (3-7%)^{4,13,14}. También se compararán dichas frecuencias en el caso del MIR27A para el que, según el estudio de Meulendijks *et al.*⁷, la frecuencia alélica para rs895819 es del 33,1%. El DPYD*6 se comparará con los rangos que aparecen en los estudios recientemente publicados de lachetta *et al.* y Del Re *et al.*^{10,14}. Esto permitirá caracterizar a la población estudiada.

Una de las principales diferencias de este proyecto con respecto al resto de los estudios publicados es su diseño ambispectivo. La gran mayoría de

los estudios son retrospectivos y realizan las determinaciones a pacientes que ya han presentado toxicidad. Los estudios prospectivos son limitados y, normalmente, determinan variantes y observan toxicidades para asociar el polimorfismo con toxicidad, sin realizar ajuste de dosis. En el estudio actual, las determinaciones y el consejo farmacogenético de ajuste de dosis se realizan de forma prospectiva, aprovechando los recursos y el beneficio clínico de la realización del genotipado preventivo.

Otra diferencia importante es que numerosos estudios evidencian la necesidad de realizar estas determinaciones, pero no evalúan la disminución de la toxicidad tras la implantación de estas determinaciones y el consejo farmacogenético. Siguiendo la línea del estudio publicado de Henricks *et al.*², en el presente estudio se pretende evaluar si estas determinaciones y la individualización del tratamiento tienen una influencia positiva en la toxicidad asociada a fluoropirimidinas, y en el caso de que así sea, la magnitud de la reducción de la toxicidad.

En el caso de DPYD*6 y MIR27A, siguiendo la línea de los estudios de lachetta *et al.* y Del Re *et al.*^{10,14} para DPYD*6 y Meulendijks *et al.*⁷ para MIR27A, se realizará un estudio de asociación del polimorfismo con toxicidad para aportar más evidencia, validar los estudios recientes y así, en un futuro cercano, llegar a un consenso sobre su determinación y ajuste de dosis correspondiente si se considera relevante.

Estas determinaciones no están plenamente incorporadas en la rutina de los hospitales, pero es cierto que cada vez son más los que deciden implantarlas.

Limitaciones

Una limitación del estudio es el diseño ambispectivo. Por razones éticas, los pacientes del GC se recogen retrospectivamente, ya que, siguiendo las recomendaciones de las autoridades sanitarias, las guías clínicas y la amplia evidencia publicada, es necesario realizar la determinación de estas variantes antes del inicio del tratamiento y, por consiguiente, no parece correcto un GC prospectivo.

Mediante este protocolo multidisciplinar se implementa la determinación preventiva de las variantes de riesgo conocido del DPYD, la individualización del tratamiento y se evaluará la reducción de la toxicidad en la práctica clínica real. Es una herramienta útil para realizar una medicina personalizada, aumentar la seguridad del paciente y el beneficio/riesgo de estos tratamientos.

En paralelo, se espera aportar más evidencia para incluir en la práctica clínica la determinación de dos nuevas variantes junto con las ya conocidas.

Financiación

Una parte del Proyecto es financiada por Laboratorios Roche, código convenio: SP200528001, correspondiente a la parte de aceptación de un programa de farmacogenética basado en la determinación de DPYD. No forman parte en la realización del proyecto.

Agradecimientos

A todos los profesionales del Hospital de San Juan de Alicante que colaboran en el desarrollo de este proyecto. Al Laboratorio Genético Ancor por su gran capacidad de adaptación a la dinámica y logística del hospital.

Presentación en Congresos

Este protocolo ha sido presentado en:

- 65 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria. Barcelona (virtual); 20-22 de octubre de 2020. Presentado como comunicación oral.
- Jornadas de la Sociedad Valenciana de Farmacia Hospitalaria. Valencia; 18-19 de septiembre de 2020.

Conflicto de intereses

Sin conflicto de intereses.

Aportación a la literatura científica

Este proyecto puede ser de interés en varios hospitales, por lo que se considera el momento idóneo para publicar el protocolo sin esperar

a obtener resultados, puesto que podría demorar la publicación y no ser de utilidad para otros profesionales sanitarios en el proceso de implantación.

Bibliografía

1. Amstutz U, Henricks LM, Offer SM, Barbarino J, Schellens JHM, Swen JJ, *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther.* 2018;103(2):210-6.
2. Henricks LM, Lunenburg CATC, de Man FM, Meulendijks D, Frederix GWJ, Kienhuis E, *et al.* DPYD genotype-guided dose individualisation of fluoropyrimidine therapy in patients with cancer: a prospective safety analysis. *Lancet Oncol.* 2018;19(11):1459-67.
3. Lunenburg CATC, van der Wouden CH, Nijenhuis M, Crommentuijn-van Rhenen MH, de Boer-Veeger NJ, Buunk AM, *et al.* Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene-drug interaction of DPYD and fluoropyrimidines. *Eur J Hum Genet.* 2020;28(4):508-17.
4. Pellicer M, García-González X, García MI, Blanco C, García-Alfonso P, Robles L, *et al.* Use of exome sequencing to determine the full profile of genetic variants in the fluoropyrimidine pathway in colorectal cancer patients affected by severe toxicity. *Pharmacogenomics.* 2017;18(13):1215-23.
5. Loganayagam A, Arenas Hernández M, Corrigan A, Fairbanks L, Lewis CM, Harper P, *et al.* Pharmacogenetic variants in the DPYD, TYMS, CDA and MTHFR genes are clinically significant predictors of fluoropyrimidine toxicity. *Br J Cancer.* 2013;108(12):2505-15.
6. Jones CM, Adams R, Downing A, Glynne-Jones R, Harrison M, Hawkins M, *et al.* Toxicity, Tolerability, and Compliance of Concurrent Capecitabine or 5-Fluorouracil in Radical Management of Anal Cancer With Single-dose Mitomycin-C and Intensity Modulated Radiation Therapy: Evaluation of a National Cohort. *Int J Radiat Oncol.* 2018;101(5):1202-11.
7. Meulendijks D, Henricks LM, Amstutz U, Froehlich TK, Largiadè CR, Beijnen JH, *et al.* Rs895819 in MIR27A improves the predictive value of DPYD variants to identify patients at risk of severe fluoropyrimidine-associated toxicity: MIR27A variants and fluoropyrimidine-associated toxicity. *Int J Cancer.* 2016;138(11):2752-61.
8. Henricks LM, Opdam FL, Beijnen JH, Cats A, Schellens JHM. DPYD genotype-guided dose individualization to improve patient safety of fluoropyrimidine therapy: call for a drug label update. *Ann Oncol.* 2017;28(12):2915-22.
9. López-Fernández LA. Validación de polimorfismos genéticos asociados a toxicidad al tratamiento quimioterápico en pacientes de cáncer colorrectal. *Farm Hosp.* 2014;4(4):283-90.
10. Del Re M, Cinieri S, Michelucci A, Salvadori S, Loupakis F, Schirripa M, *et al.* DPYD*6 plays an important role in fluoropyrimidine toxicity in addition to DPYD*2A and c.2846A>T: a comprehensive analysis in 1254 patients. *Pharmacogenomics J.* 2019;19(6):556-63.
11. Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM, Gong L, Sangkuhl K, Thorn CF, *et al.* Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;92(4):414-7.
12. Rada M, Schwabe W, Häusler P, Van Kuilenburg AB, Van Gennip AH, Behnke D, *et al.* Prevalence of a common point mutation in the dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) gene within the 5'-splice donor site of intron 14 in patients with severe 5-fluorouracil (5-FU)-related toxicity compared with controls. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2001;7(9):2832-9.
13. Amstutz U, Farese S, Aebi S, Largiadè CR. Dihydropyrimidine dehydrogenase gene variation and severe 5-fluorouracil toxicity: a haplotype assessment. *Pharmacogenomics.* 2009;10(6):931-44.
14. Iachetta F, Bonelli C, Romagnani A, Zamponi R, Tofani L, Farnetti E, *et al.* The clinical relevance of multiple DPYD polymorphisms on patients candidate for fluoropyrimidine based-chemotherapy. An Italian case-control study. *Br J Cancer.* 2019;120(8):834-9.
15. Fluorouracilo, capecitabina, tegafur y flucitosina en pacientes con déficit de dihidropirimidina deshidrogenasa [Internet]. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. 2020 [consultado 13/12/2020]. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/informa/notasinformativas/medicamentososohumano-3/seguridad-1/2020-seguridad-1/fluorouracilo-capecitabina-tegafur-y-flucitosina-en-pacientes-con-deficit-de-dihidropirimidina-deshidrogenasa/>
16. Amstutz U, Offer SM, Sistonen J, Joerger M, Diasio RB, Largiadè CR. Polymorphisms in MIR27A Associated with Early-Onset Toxicity in Fluoropyrimidine-Based Chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2015;21(9):2038-44.