

RAPPORT FINAL

-

Etude pilote de dépistage des sujets déficitaires en
dihydropyrimidine déshydrogénase.

Application au cancer du sein traité par fluoropyrimidine
Orale.

-

« DPD Sein »

N° Eudract 2008-004136-20

Promoteur
Centre Antoine Lacassagne
33 avenue de Valombrose
06189 NICE CEDEX 2




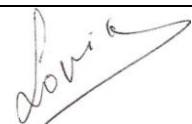
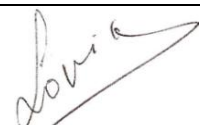

Investigateur Coordonnateur
Pr Jean-Marc FERRERO
Centre Antoine Lacassagne
33 avenue de Valombrose
06189 NICE CEDEX 02

☎ 04-92-03-15-35 - 📠 04-92-03-10-46
Email : jean-marc.ferrero@nice.unicancer.fr



Version n° 1 du 08/11/2013.

APPROBATION ET SIGNATAIRES DU RAPPORT FINAL

Responsables	Nom	Coordonnées	Date (jj-mm-aaaa)	Signature
Directeur Général du CAL	PR Joël GUIGAY	04-92-03-15-01	24/02/2014	
Investigateur Coordonnateur	Pr Jean-Marc FERRERO	04-92-03-13-57	24/02/2014	
Biostatisticien - Méthodologiste	Dr Marie-Christine ETIENNE- GRIMALDI	04-92-03-15-29	24/02/2014	
Chef de projet	Christine LOVERA	04-92-03-16-18	24/02/2014	
Responsable Pharmacovigilance	Christine LOVERA	04-92-03-16-18	24/02/2014	
Responsable Affaires Réglementaires et Financières	Christine LOVERA	04-92-03-16-18	24/02/2014	

L'ensemble des personnes sus-nommées reconnaissent avoir pris connaissance du rapport final relatif à la recherche biomédicale intitulée « Etude pilote de dépistage des sujets déficitaires en dihydropyrimidine déshydrogénase. Application au cancer du sein traité par fluoropyrimidine Orale » conformément aux Bonnes Pratiques Cliniques, à la Loi 2004-806 9 août 2004 du Code de la Santé Publique, de l'arrêté du 9 mai relatif au contenu et aux modalités de présentation des informations relatives à la fin de recherche, au rapport final et au résumé du rapport final d'une recherche biomédicale portant sur un médicament à usage humain.

**Etude pilote de dépistage des sujets déficitaires en
dihydropyrimidine déshydrogénase.
Application au cancer du sein traité par fluoropyrimidine orale**

Nom du traitement expérimental : Non applicable

Indication étudiée : Cancer du sein métastatique recevant la capecitabine en monothérapie ou en association avec un traitement ciblé anti-angiogénique (bévacicumab ou autre anti-angiogénique).

Schéma d'étude : Etude pilote prospective multicentrique observationnelle. La capecitabine, dont la dose a été laissée à la libre appréciation de l'investigateur, aura été administrée per os pendant 14 jours, suivi de 7 jours d'arrêt avant reprise du cycle suivant, sur une durée de 24 mois et/ou jusqu'à progression. Un prélèvement spécifique à l'essai sera réalisé 1 à 15 jours avant l'administration de Capecitabine. Pour les patientes participant à l'étude optionnelle de pharmacocinétique, un échantillon sanguin sera prélevé au J1 du premier cycle sur une durée de 5 h.

Promoteur

Centre Antoine Lacassagne
33 avenue de Valombrese
06189 NICE CEDEX 2

N° Eudract 2008-004136-20

Phase de développement de l'étude : Etude observationnelle

Date de début de l'étude (date d'inclusion du premier patient) : 25/02/2009

Date de clôture de l'étude : 01/03/2013

Investigateur Coordonnateur

Pr Jean-Marc FERRERO

Centre Antoine Lacassagne - Département d'Oncologie Médicale
33 avenue de Valombrese
06189 NICE CEDEX 02

☎ 04-92-03-15-35 - 📠 04-92-03-10-46

Email : jean-marc.ferrero@nice.unicancer.fr

Chef de projet

Christine LOVERA

Centre Antoine-Lacassagne - DRIS
33, avenue de Valombrese
06189 NICE CEDEX 2

☎ 04-92-03-16-18 - 📠 04-92-03-10-30

Email : christine.lovera@nice.unicancer.fr

Le Centre ANTOINE-LACASSAGNE, promoteur, déclare que le rapport final relatif à la recherche biomédicale intitulée « DPD Sein » a été élaboré conformément au Code de la Santé Publique article 1121-1 et suivants, à ses décrets et arrêtés en vigueur et aux Bonnes Pratiques Cliniques du 24 novembre 2006, y compris en ce qui concerne l'archivage des documents.

Sommaire

1. ASPECTS ETHIQUES _____	5
2. ASPECTS ADMINISTRATIFS _____	5
1.1 STRUCTURE ADMINISTRATIVE _____	5
1.2 LISTE DES INVESTIGATEURS _____	6
3. PRESENTATION DE L'ETUDE _____	8
1.3 RATIONNEL _____	8
1.4 OBJECTIFS DE L'ESSAI _____	9
1.5 CRITERES D'INCLUSION DANS L'ESSAI _____	10
4. DEROULEMENT DE L'ETUDE _____	11
1.6 AMENDEMENTS _____	11
1.7 LES VISITES DE MONITORING _____	11
1.8 CIRCUIT ET CONFORMITE DES ECHANTILLONS _____	12
5. DESCRIPTION DE LA POPULATION DE L'ETUDE _____	13
1.9 CHRONOLOGIE DES INCLUSIONS ET FIN D'ETUDE _____	13
1.10 DESCRIPTION DE LA POPULATION TOTALE DE L'ETUDE _____	14
1.11 DEVIATION AU PROTOCOLE _____	15
6. PRESENTATION DES RESULTATS DE L'ETUDE _____	15
1.12 CARACTERISTIQUE DES PATIENTS DE L'ETUDE ET TRAITEMENT ADMINISTRE (286) _____	15
1.13 OBJECTIF PRINCIPAL _____	16
1.14 OBJECTIFS SECONDAIRES _____	19
1.14.1 VALEUR DU GENOTYPE GERMINAL DE LA TS ET DE LA MTHFR _____	19
1.14.2 ACTIVITE CYTIDINE DEAMINASE _____	19
1.14.3 FAISABILITE D'UN SCREENING A GRANDE ECHELLE DU RAPPORT PLASMATIQUE UH2/U _____	19
1.14.4 GENOTYPAGE DE LA DPYD _____	19
1.14.5 PHARMACOCINETIQUE DE LA CAPECITABINE ET DE SES METABOLITES _____	20
1.14.6 EVALUER LE COUT TOTAL (TRANSPORT DES ECHANTILLONS, COUT DE LABORATOIRE) DE CE SCREENING PRETHERAPEUTIQUE BASE SUR LE SEUL PHENOTYPAGE (UH2/U) OU SUR L'ASSOCIATION- PHENOTYPAGE + GENOTYPAGE. _____	22
1.14.7 GENE DPYD CHEZ LES PATIENTS AYANT DEVELOPPES UNE TOXICITE _____	22
CONCLUSION _____	23
7. CIRCUIT D'APPROBATION _____	23
8. ANNEXES _____	24
1.15 NOTE D'INFORMATION ET CONSENTEMENT ECLAIRE _____	25
1.16 SUPPORTS STATISTIQUES POUR LA REDACTION DU RAPPORT FINAL _____	31

1. ASPECTS ETHIQUES

Le protocole « Etude pilote de dépistage des sujets déficitaires en dihydropyrimidine déshydrogénase. Application au cancer du sein traité par fluoropyrimidine orale » a fait l'objet d'un avis favorable du CPP Sud Méditerranée V de Nice en date du 26 novembre 2008 et de l'ANSM au 18 novembre 2008.

Les modifications substantielles n°1, n°2, n°3, n°4 et n°5 ont été approuvés par le CCP Sud Méditerranée V de Nice en date du 8 avril 2009, du 8 juillet 2009, du 7 avril 2010, du 7 juillet 2010 et du 5 novembre 2012, respectivement.

Le Centre ANTOINE-LACASSAGNE, promoteur, déclare que l'essai « Etude pilote de dépistage des sujets déficitaires en dihydropyrimidine déshydrogénase. Application au cancer du sein traité par fluoropyrimidine orale » a été conduit conformément au Protocole, au Code de la Santé Publique article 1121-1 et suivants, à ses décrets et arrêtés en vigueur et aux Bonnes Pratiques Cliniques du 24 novembre 2006, selon les principes éthiques de la déclaration d'Helsinki.

La procédure d'obtention du consentement par les patients et une copie de la note d'information et du consentement sont fournies en annexe 1.

2. ASPECTS ADMINISTRATIFS

1.1 Structure administrative

Investigateur Coordonnateur Pr Jean-Marc FERRERO	Département d'Oncologie Médicale Centre Antoine LACASSAGNE	Tel : 04-92-03-15-35 Fax : 04-92-03-10-46 Email : jean-marc.ferrero@nice.unicancer.fr
Biologistes Coordonnateurs Dr Gérard MILANO, Dr Marie-Christine ETIENNE-GRIMALDI	Laboratoire d'Oncopharmacologie EA 3836 Centre Antoine Lacassagne	Tel : 04-92-03-13-53/04-92-03-15-56 Fax : 04-92-03-71-31 Email : gerard.milano@nice.unicancer.fr Email : marie-christine.etienne@nice.unicancer.fr
Chef de Projet Christine LOVERA	Centre Antoine LACASSAGNE DRIS Direction de la Recherche, Innovation, et Statistiques	Tel : 04 92 03 16 18 Fax 04 92 03 10 30 Email : christine.lovera@nice.unicancer.fr
ARC Promoteur Béatrice DECLERC		Tel : 04-92-03-16-62 Fax : 04-92-03-10-30 Email : beatrice.declerc@nice.unicancer.fr
Biostatisticien Méthodologiste Dr Marie-Christine ETIENNE-GRIMALDI		Tel : 04 92 03 15 29 Fax : 04 92 03 10 30 Email : marie-Christine.etienne@nice.unicancer.fr
Data Management Yann CHATEAU		Tel : 04 92 03 16 79 Fax : 04 92 03 10 30 Email : Yann.chateau@nice.unicancer.fr
Pharmacovigilance Christine LOVERA Envoi des notifications	Unité de Pharmacovigilance de la DRIS Tel : 04 92 03 16 18 Fax 04 92 03 10 30 Email : christine.lovera@nice.unicancer.fr	

1.2 Liste des investigateurs

N°	Promoteur	Investigateur Coordonnateur
1	Centre Antoine Lacassagne Représenté par son directeur général Professeur Jean Pierre GERARD	Professeur Jean Marc FERRERO (investigateur Coordonnateur) Docteur Philippe FOLLANA Docteur Véronique MARI
		Biologistes responsables
		Gérard MILANO, Pharmacologue Marie-Christine ETIENNE-GRIMALDI, Méthodologiste
Centres Investigateurs		Investigateurs Principaux
2	CHU de Besançon, Besançon	Docteur X. PIVOT
3	Poyclinique Nord Aquitaine, Bordeaux	Docteur N. DOHOLLOU
4	Centre François Baclesse, Caen	Docteur T. DELOZIER
5	Hôpital Henri Mondor, Créteil	Docteur D. POUESSEL
6	CHU de Grenoble, Grenoble	Docteur M. MOUSSEAU
7	Centre Oscar Lambret, Lille	Docteur V. SERVENT
8	Centre Léon Bérard, Lyon	Docteur T. BACHELOT
9	CHU de Marseille, Marseille	Docteur C. MERCIER
10	Institut Paoli Calmettes, Marseille	Docteur A. GONCALVES
11	Centre Paul Larmarque, Montpellier	Docteur G. ROMIEU
12	Centre Azuréen de Cancérologie, Mougins	Docteur R. LARGILLIER
13	Centre Alexis Vautrin, Nancy	Docteur E. LUPORSI
14	Centre René Gauducheau, Nantes	Docteur M. CAMPONE
15	CHU de Nîmes, Nîmes	Docteur F. BONS
16	Institut Curie, Paris	Docteur V. DIERAS
17	Hôpital Georges Pompidou, Paris	Docteur J. MEDIONI
18	Institut Claudius Regaud, Toulouse	Docteur H. ROCHE

Centres où seront réalisées les analyses biologiques		Biologistes
1	Centre Paul Papin, Angers	Docteur E. Gamelin
2	CHU de Besançon, Besançon	Docteur B. Royer
3	Centre François Baclesse, Caen	Docteur A. Hardouin
4	Hôpital Henri Mondor, Créteil	Docteur A. Hulin
5	Centre Oscar Lambret, Lille	Docteur Dr A. Lansiaux
6	CHU de Marseille, Marseille	Docteur J. Ciccolini
7	Institut Paoli Calmettes, Marseille	Docteur H. Sobol
8	Centre Paul Larmarque, Montpellier	Docteur F. Pinguet
9	Centre Alexis Vautrin, Nancy	Docteur J.L. Merlin
10	Centre Antoine Lacassagne, Nice	Docteur G. Milano
11	Centre René Gauducheau, Nantes	Docteur C. Bobin-Dubigeon
12	CHU de Nîmes, Nîmes	Docteur JC. Boyer
13	Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris	Docteur G. Bastian
14	Institut Claudius Regaud, Toulouse	Docteur E. Chatelut
15	INSTITUT CURIE, Paris	Docteur P. De Cremoux

Comité de Rédaction

Marie-Christine ETIENNE-GRIMALDI

Gérard MILANO

Jean-Marc FERRERO

Christine LOVERA

3. PRESENTATION DE L'ETUDE

1.3 Rationnel

Les prodrogues orales du 5FU telles que la capecitabine (Xéloda®) tendent à remplacer de plus en plus le 5FU IV. La capecitabine est désormais largement utilisée dans le cancer du sein métastatique après échec aux anthracyclines ± taxanes pour les patientes ne pouvant bénéficier ni d'une hormonothérapie, ni du trastuzumab. La capecitabine est également administrée en monothérapie de première ligne ou en poly-chimiothérapie.

Même si la tolérance à la capecitabine est généralement jugée acceptable, les syndromes main-pied et les épisodes de diarrhée peuvent survenir fréquemment et compromettre la poursuite du traitement, particulièrement pour les patientes âgées. Des phénomènes de fatigue et des épisodes de myelosuppression et de nausées sont aussi observés sous capecitabine. Une méta-analyse incluant plus de 1000 patients avec cancer colorectal traité par fluoropyrimidine a montré qu'une toxicité de grade 3-4 survenait chez 30 % des patients avec 0,5 % de toxicité létale. Une étude prospective menée par notre groupe sur 105 cancers du sein recevant la capecitabine en monothérapie a rapporté au 1^{er} cycle 6,1 % de toxicité hématologique de grade 3-4, 5,2 % de diarrhée grade 3-4 et 5,2 % de syndrome main-pied grade 3-4 avec une dose moyenne de 2020 mg/m²/jour.

La survenue d'une toxicité sévère aux fluoropyrimidine est principalement liée à un déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD), cependant les sujets déficients pour cette enzyme ne sont pas systématiquement identifiés avant l'initiation du traitement. Les recommandations des prodrogues orales du 5FU comme la capecitabine mentionnent qu'un déficit en DPD contre-indique leur administration. Il est donc important de proposer et valider une politique de dépistage généralisable pour identifier les sujets déficients en DPD. Le dosage de l'activité enzymatique n'étant pas réalisable à grande échelle, des méthodes indirectes ont été proposées : rapport dihydrouracile/uracile (UH₂/U) plasmatique, ou le génotypage.

Les nombreuses données de la littérature publiées dans le cancer colorectal traité par 5FU, associées aux quelques données rapportés pour la capecitabine, permettent de formuler l'hypothèse qu'un simple phénotypage du déficit en DPD (rapport UH₂/U plasmatique), avec ou sans un génotypage additionnel, pourrait permettre l'identification de patients risquant de développer une toxicité sévère sous capecitabine. En effet, la stratégie précédemment développée dans le cancer colorectal traité par 5FU ne peut pas être directement extrapolée au cancer du sein traité par capecitabine. Tout d'abord, la pharmacocinétique de la capecitabine est très différente de celle du 5FU. De plus, le mode d'administration (*per os* *versus* *iv*), ainsi que les chimiothérapies associées sont très différentes entre la capecitabine et le 5FU.

Nous avons donc conduit une étude multicentrique pilote chez des patientes avec cancer du sein métastatique traitées par capecitabine, afin d'identifier une valeur seuil du rapport UH₂/U plasmatique capable de prévoir le risque de développer une toxicité sévère à la capecitabine. Cette étude a été conduite en partenariat avec le Groupe de Pharmacologie Clinique Oncologique (GPCO) de la Fédération Nationale des Centres de Lutte contre le Cancer (FNCLCC).

Cette étude pilote devrait permettre de proposer en pratique une politique de screening à grande échelle des déficits en DPD afin de prédire la toxicité sévère à la capecitabine. La validation d'un test facilement réalisable et à coût modéré, avec une bonne sensibilité et spécificité, devrait permettre de proposer dans un second temps une étude clinique prospective pour démontrer l'impact pharmaco-économique d'une telle politique de screening. Une telle étude permettrait d'optimiser le traitement par capecitabine (coût / bénéfice) en identifiant trois catégories de patients :

- les patients sans risque a priori, qui pourraient recevoir la pleine dose de 2500 mg/m²/j,
- les patients à risque modéré qui recevraient une dose réduite de capecitabine au 1^{er} cycle,
- enfin les patients à risque élevé de toxicité pour lesquels le traitement par capecitabine serait contre indiqué *à priori*.

Il n'existe pas de risques prévisibles particuliers à notre étude, si ce n'est les risques pouvant être induit par les prélèvements sanguins nécessaires, spécifiés par le protocole. Les autres effets secondaires et événements indésirables susceptibles d'être observés chez les patientes sont ceux reportés dans la RCP et en pratique courante sur les patientes recevant de la Capecitabine.

1.4 Objectifs de l'essai

Objectif principal

Déterminer la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positives et négatives du rapport plasmatique UH₂/U mesuré avant le début du traitement, vis-à-vis de la survenue d'une toxicité grade 3-4 liée à un traitement par capecitabine au premier et au deuxième cycle de traitement (toxicité hématologique, diarrhée et syndrome main-pied).

Objectifs secondaires

- 1) Tester prospectivement la valeur du génotype germlinal de la TS et de la MTHFR comme facteurs prédictifs de résistance à la capecitabine sur une large population de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique traité par capecitabine en monothérapie ou en association à un anti-angiogénique.
- 2) Tester prospectivement la valeur de l'activité cytidine déaminase (CDA, enzyme participant à l'activation métabolique de la capecitabine en activant le 5'DFCR en 5'DFUR) plasmatique sur la toxicité et l'efficacité du traitement par capecitabine.
- 3) Evaluer la faisabilité pratique d'un screening à grande échelle du rapport plasmatique UH₂/U : faisabilité du prélèvement, de son transport vers le laboratoire chargé de l'analyse, et estimation *à posteriori* du délai du rendu du résultat au clinicien.
- 4) Déterminer la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positives et négatives du génotypage de la DPD vis-à-vis des toxicités de grade 3-4 à la capecitabine (toxicité hématologique, diarrhée et syndrome main-pied) au premier et deuxième cycle et surtout évaluer le gain de prédictivité apporté par le génotypage par rapport au seul phénotypage (UH₂/U). L'étude de pharmacogénétique inclura les 4 SNPs les plus pertinents : IVS14+1G>A, 2846 A>T, 1679 T>G et 464 T>A.
- 5) Evaluer la pharmacocinétique de la capecitabine et de ses métabolites afin de la mettre en relation avec le rapport UH₂/U, le génotype de la DPD et l'activité CDA plasmatique.
- 6) Evaluer le coût total (transport des échantillons, coût de laboratoire) de ce screening pré-thérapeutique basé sur le seul phénotypage (UH₂/U) ou sur l'association-phénotypage + génotypage.

7) Analyser de façon exhaustive les 23 exons du gène *DPYD* chez les patients ayant développé une toxicité, afin de mettre en évidence d'éventuels nouveaux polymorphismes de ce gène.

1.5 Critères d'inclusion dans l'essai

Critères d'Inclusion

- Patiente de sexe féminin âgée de plus de 18 ans,
- Patiente présentant un cancer du sein métastatique prouvé (preuve radiologique, scintigraphique ou histologique),
- Patiente débutant un traitement par capecitabine en monothérapie ou en association avec une thérapie ciblée anti-angiogénique (bévacizumab ou autre anti-angiogénique), quelques soient les lignes thérapeutiques antérieures :
 - Administration d'Herceptine autorisée
 - Administration de Lapatinib interdite
 - Administration de Capecitabine et/ou de fluoropyrimidine en adjuvant autorisée
- Patiente présentant une ou des cibles mesurables ou évaluables
- Signature du consentement éclairé
- Affiliation à un régime d'assurance sociale
- Patiente en âge de procréer sous traitement contraceptif efficace

Critères de non inclusion

- Capecitabine co-administrée avec une chimiothérapie,
- Présence de métastase cérébrale non contrôlée, symptomatique
- Durée de vie estimée de moins de 3 mois,
- Présence d'une maladie chronique non équilibrée,
- Présence d'une insuffisance cardiaque non contrôlée,
- Antécédent de cancer primitif antérieur autre que carcinome cutané baso-cellulaire,
- Présence d'une infection sévère non contrôlée,
- Présence d'une insuffisance veineuse périphérique (ne concerne que les patientes recevant une thérapie ciblée par voie intra-veineuse concomitamment à la prise de Capecitabine),
- Patiente présentant un désordre psychologique

4. DEROULEMENT DE L'ETUDE

Aucun changement majeur du plan d'investigation n'est à reporter pour cette étude.

1.6 Amendements

Au cours de cette étude, 5 amendements ont été soumis puis validés par le CPP Sud Méditerranée V. Les principales modifications substantielles apportées sont les suivantes :

- Autorisation de l'administration de la Capecitabine concomitamment à l'administration de l'Herceptine.
- Autorisation de l'inclusion de patientes ayant reçu de la Capecitabine et/ou des fluoropyrimidines dans le cadre du traitement adjuvant.
- Interdiction de l'administration du Lapatinib avec la Capecitabine : la toxicité croisée existant entre la Capecitabine et le Lapatinib n'aurait pas permis la différenciation et l'imputabilité des toxicités à l'un ou l'autre des produits, biaisant ainsi les résultats de objectif principal.
- Un critère de non inclusion initial a été supprimé : « présence d'une insuffisance respiratoire hypoxémiante »
- Le délai concernant le prélèvement sanguin spécifique au protocole (dosage UH2/U plasmatique + génotypage) a été modifié pour pouvoir être réalisé entre 1 à 15 jours avant la prise de Capecitabine au lieu de 10 à 15 jours initialement et qui correspondait au délai d'une mise en condition réelle incluant le temps pour l'envoi, le technicage et le rendu des résultats.
- Suite à des travaux publiés en cours d'étude : une partie du plasma initialement prélevé et dédié au dosage UH2/U sera utilisé pour le dosage de l'activité de la cytidine déaminase (CDA).
- Prolongation de la période d'inclusion de 6 mois, de manière à atteindre l'objectif d'inclusion de 300 patients.

1.7 Les visites de monitoring

Dans un premier temps, la saisie des données a été réalisée sur CRF papier. A partir du 7 juillet 2009, un CRF électronique a été mis en place. Les données déjà remplies dans les CRF papier ont alors été saisies par l'ARC promoteur sur le CRF électronique.

Sur un total de 15 centres, une soixantaine de monitoring ont été réalisés pour cette étude qui comprend 303 patients inclus. Le monitoring des dossiers des 14 centres extérieurs au centre sponsor (centre Antoine-Lacassagne) a été effectué par l'ARC moniteur de l'étude, Mme Béatrice Declercq (tableau ci-dessous). Le monitoring interne des 46 dossiers du centre sponsor a été réalisé par les ARC moniteurs du centre Antoine-Lacassagne indépendants de cette étude.

La fréquence des visites de monitoring des centres extérieurs se répartit comme décrit dans le tableau ci-dessous :

															total
Centre extérieur	2	3	4	5	6	7	8	10	11	12	13	15	16	18	14
nombre de patients	31	2	2	1	23	13	41	15	57	26	1	1	30	14	257
nombre de monitoring	5	1	1	1	7	4	9	5	8	10	0	0	6	3	58

En moyenne, il aura été réalisé une visite de monitoring pour 5 patients inclus. Pour cette étude, la totalité des patients de l'étude ont été monitorés par l'ARC moniteur.

1.8 Circuit et conformité des échantillons

Phénotypage de la DPD :

Les prélèvements, destinés au phénotypage de la DPD (UH2/U plasmatique pré-thérapeutique, dosage HPLC), réalisés sur site ont été envoyés pour être dosés au sein d'un laboratoire doseur préalablement attribué :

- Le laboratoire doseur de Nantes a été en charge du dosage des échantillons provenant des sites de Nice, Lille, Mougins et Paris (Institut Curie), sous la responsabilité de C. Bobin-Dubigeon.
- Le laboratoire de Toulouse a dosé les échantillons des centres de Besançon, Bordeaux, Marseille, Montpellier et Toulouse, sous la responsabilité de E. Chatelut.
- Enfin le laboratoire d'Angers a été chargé du dosage des échantillons des centres de Caen, Grenoble et Lyon, sous la responsabilité de M Boisdron-Celle.

A l'issue du 5ème Contrôle Qualité UH2/U (3 plasmas déplétés et chargés fournis par Angers), l'ensemble des analyse UH2/U a été centralisé sur les centres unicancer de Toulouse (N=116), Nantes (N=111), et Angers (N=66). Un Contrôle Qualité UH2/U inter-essai commun aux 3 laboratoires a été mis en place pour le dosage des plasmas de l'étude, utilisant un pool de plasma issu de 52 volontaires sains fournis par Nice. Ces contrôles qualité inter-essai montraient 100% de résultats conformes pour l'UH2 (i.e. 100% des valeurs comprises entre $\pm 15\%$ de la valeur moyenne de 92.2 ng/ml des 3 laboratoires calculée sur 52 aliquots) et 98% de résultats conformes pour l'U (seul un résultat sur 51 sortait de l'intervalle $\pm 15\%$ de la valeur moyenne de 7.9 ng/ml, avec une valeur contrôle à + 22%). Concernant le ratio UH2/U, 94 % des valeurs contrôles étaient comprise dans un intervalle de 15% d'une valeur moyenne de 11.7, avec 3 valeurs à -25%, -19% and +19%, respectivement.

Le tableau ci-dessous présente le nombre d'échantillons reçus, par l'ensemble des laboratoires doseurs, et analysés par type de dosage (phénotypage : UH2, Ura, ratioUH2/U et génotypage):

Critères d'exploitation :	Echantillons reçus (N=294)			
	Exploitable		Non exploitables	
	N	%	N	%
Date de prélèvement	292	99.3	2	0.7
Résultat du dosage UH2	285	96.9	9	3.1
Résultat du dosage Ura	286	97.3	8	2.7
Ration UH2/U	290	98.6	4	1.4
Génotypage	293	99.7	1	0.3

Parmi les 294 prélèvements reçus, 2 n'indiquaient pas de date de prélèvement. Les résultats de l'UH2 ont été exploitables pour 285 patients (96.9%) et ceux de l'Ura pour 286 patients (97.3). Suite à un problème d'étalonnage interne, 6 échantillons du laboratoire doseur de Toulouse ne sont interprétables que sur le ratio UH2/U. Au final, le rapport UH2/U est exploitable pour 290 patients (cf. flow chart page 14).

Génotypage de la DPD :

Le génotypage consistait en l'analyse des polymorphismes IVS14+1G>A (DPYD*2A, rs 3918290), 2846A>T (D949V, rs 67376798), 1679T>G (I560N/S, DPYD*13, rs 55886062) et 464T>A. Ces analyses ont été réparties entre les 7 centres unicancer suivants : Nancy (JL Merlin, N=68), Angers (M Boisdron-Celle, N=64), Montpellier (F Pinguet, N=56), Toulouse (E Chatelut, N=44), Caen (A Hardouin, N=2) et les CHU de Besançon (C Ferrand, N=31) et

Nîmes (JC Boyer, N=23). Différentes techniques ont été utilisées selon le laboratoire (direct sequencing, pyrosequencing, Taqman) et un contrôle qualité inter-laboratoire préalablement (caractérisation des échantillons d'ADN) a été effectué validant la qualité du génotyping.

Phénotypage de la cytidine déaminase (CDA) pré-thérapeutique :

La mesure de l'activité CDA plasmatique a été centralisée sur le centre unicancer de Nice. Il s'agit d'un dosage enzymatique par HPLC mesurant la formation d'uridine après une incubation en présence de cytidine. La sensibilité analytique était de 10 pmol/h/mg prot, et les reproductibilités intra-essai (N=10) et inter-essai (N=21) étaient de 2.6 % et 8.5%, respectivement.

5. DESCRIPTION DE LA POPULATION DE L'ETUDE

1.9 Chronologie des inclusions et fin d'étude

Cette étude a obtenue l'autorisation de l'ANSM le 18 Novembre 2008 et celle du CPP Sud Méditerranée V le 26 Novembre 2008.

La période des inclusions s'est déroulée du 25 Février 2009, avec l'inclusion du premier patient (11-001), au 10 Février 2011 (inclusion du dernier patient, 16-303), soit une période d'inclusion de 2 ans. La répartition des inclusions entre les différents centres ouverts pour cette étude est présentée dans le tableau ci-dessous.

Suivi des Inclusions					
N°	Centres	2009	2010	2011	Total
1	Centre Antoine Lacassagne - Nice	18	25	3	46
2	CHU - Besançon	1	25	5	31
3	Polyclinique Nord Aquitaine - Bordeaux	0	2	0	2
4	Centre François Baclesse - Caen	0	2	0	2
5	Hôpital Henri MONDOR - Creteil	1	0	0	1
6	CHU - Grenoble	0	22	1	23
7	Centre Oscar Lambret - Lille	2	11	0	13
8	Centre Léon Bérard - Lyon	14	19	8	41
9	CHU - Marseille	0	0	0	0
10	Institut Paoli Calmettes - Marseille	2	13	0	15
11	Centre Val d'Aurelle - Paul Lamarque- Montpellier	29	23	5	57
12	Centre Azuréen de Cancérologie - Mougins	11	14	1	26
13	Centre Alexis Vautrin - Nancy	1	0	0	1
15	CHU - Nîmes	0	1	0	1
16	Institut Curie - Paris	0	26	4	30
18	Institut Claudius Regaud - Toulouse	0	13	1	14
total :		79	196	28	303

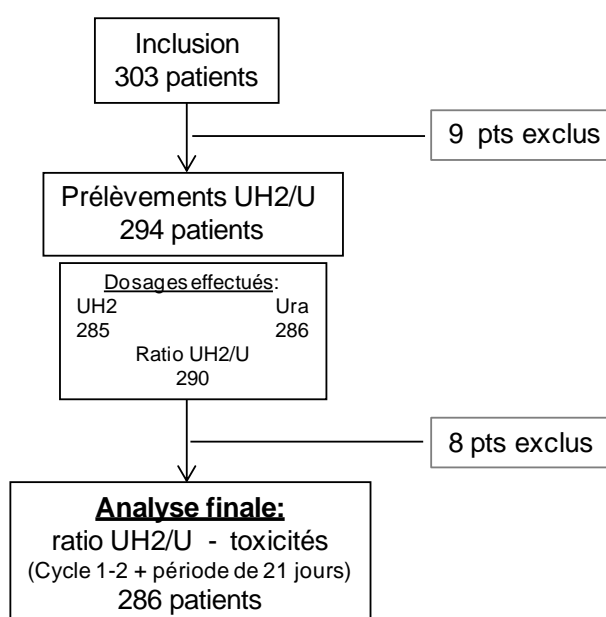
La déclaration de fin de recherche a été faite auprès de l'ANSM et du CPP Sud Méditerranée V en date du 1^{er} Mars 2013 à la fin du suivi protocolaire de la dernière patiente inclus suivie dans cette étude.

Le rapport statistique a été rédigé par l'ARC rédacteur sur la base des documents présentés en annexe 2 et fournis par le biostatisticien de l'étude. Le résumé de ce rapport est à remettre aux autorités compétentes avant le 1^{er} Mars 2014 (Délai réglementaire de 1 an suivant la déclaration de la fin de la recherche).

1.10 Description de la population totale de l'étude

Dans cette étude, un total de 303 patientes a été inclus.

Flow chart de la population totale de l'étude:



Au totale, 17 patientes ont été exclues de l'analyse portant sur le critère principal :

- Dans un premier temps, 9 patientes pour lesquels le laboratoire doseur n'a pas reçu d'échantillons ont été exclues : le prélèvement ayant été soit non fait (15-102), soit non réceptionné au laboratoire doseur (07-013, 07-126, 10-123, 11-160, 13-050), soit détérioré avant réception (13-132, 16-133, 12-184).
- Ensuite, 8 patientes parmi les 294 patientes dosées ont été exclues pour les raisons suivantes :
 - 6 n'ont jamais reçu de capecitabine (02-287, 05-051, 06-109, 06-143, 07-035, 11-288) dont 2 patients (05-051 et 07-35) sont décédés avant la première prise de capecitabine.
 - 1 a retiré son consentement (11-299).
 - et 1 dont l'analyse UH2/U est non réalisable (11-191).

Au final, 286 (94.4%) patientes étaient exploitables pour l'analyse finale. Il s'agit des patientes pour lesquels l'uracile et/ou de la dihydrouracile et/ou du ratio UH2/U sont disponibles, soit 280 avec l'uracile, 279 avec l'UH2 et 283 avec le ratio. Au final, 278 patientes présentent les 3 paramètres (Ura, UH2 et le ratio) disponibles. De plus, parmi ces patientes le génotypage a été réalisé pour 281 patientes.

1.11 DéviatiOn au protocole

Les déviatiOns majeures suivantes, concernant des critères d'éligibilité, ont été relevées :

- 3 prises d'un traitement concomitant interdit : le lapatinib (critère de non inclusion) : patientes 07-176, 07-209 et 06-270.
- 1 inclusion à tort suite à une multi récidiVe mais non métastatique : patiente 11.045.
- 4 patientes présentaient un second cancer à l'inclusion: 06-222, 12-025, 12-065 et 04-117.
- 11 patientes avaient un antécédent de cancer : 18-226, 18-232, 18-291, 02-185, 06-216, 06-204, 10-154, 16-098, 02-112, 02-125 et 02-121, et 1 patiente présentait des métastases cérébrale : 10-116. Les inclusions de ces patientes ont toutes été validées par l'investigateur principal de l'étude (Pr J.M. FERRERO).

Une patiente a également présenté une déviatiOn concernant les délais entre la consultation d'inclusion et le J1 du traitement.

Au cours de l'étude, de nombreuses déviatiOns ont été rapportées concernant l'heure de prélèvement de l'UH2 (prélèvements réalisés après 11 heures le matin). Concernant le circuit des échantillons UH2 : un échantillon a été mal conservés (en ambiant ; 12-184), d'autres détériorés (16-132 et 16-133), ou même non réceptionnés dans le laboratoire doseur (07-013, 07-126, 10-123, 11-160 et 13-050).

6. PRESENTATION DES RESULTATS DE L'ETUDE

Pour l'analyse statistique relative à cette étude, les variables quantitatives ont été analysées à l'aide du test non-paramétrique de Mann-Whitney et les variables qualitatives à l'aide de la méthode exacte de Fisher. L'ensemble des tests était bilatérale et réalisé sur le logiciel SPSS (v. 15).

1.12 Caractéristique des patients de l'étude et traitement administré (286)

	N	%
Performance status		
0	96	33.6%
1	78	27.3%
2	24	8.4%
3	4	1.4%
Unknown	84	29.4%
Metastasis site		
Liver	154	53.8%
Bone	187	65.4%
Lung	113	39.5%
Brain	9	3.1%
Cutaneous	37	12.9%
Lymph node	66	23.1%
Others	15	5.2%
Capecitabine treatment		
Monotherapy	252	88.1%
Associated with targeted therapy :		
- Bevacizumab	22	7.7%
- Trastuzumab	9	3.1%
- Lapatinib	3	1.0%
Capecitabine line		
1 st line	79	27.6%
2 nd line	104	36.4%
3 rd line	74	25.9%
≥ 4 th line	29	10.1%
Number of Capecitabine cycle		
1 cycle	286	100%
2 cycles	262	91.6%
≥ 3 cycles	241	84.3%

Table 1 : Description de la population de l'étude

L'âge moyen des patientes était de 60 ans (30-88) et le PS à l'inclusion était de 0 (N=96), 1 (N=78), 2 (N=24) ou 3 (N=4) (table 1).

La grande majorité recevait la capecitabine en monothérapie (88.1%) et 11.9% recevait une thérapie ciblée associée, bevacizumab (N=22), trastuzumab (N=9) ou lapatinib (N=3, écarts au protocole).

Sur ces 286 patientes, 27.6% des patientes étaient traitées en première ligne de chimiothérapie métastatique, 36.4% en deuxième ligne, 25.9% en troisième ligne et 10.1% en 4ème ligne ou plus.

L'intensité de la dose moyenne au premier cycle était de 1957 mg/m²/j (médiane à 1980 et extrêmes compris entre 65 et 2590). 91.6% des patientes ont reçu au moins 2 cycles, et 84.3% au moins 3 cycles.

Le délai médian entre le prélèvement sanguin pré-traitement et le début de la prise de capecitabine était de 4 jours (Q1-Q3 1-7 jours).

1.13 Objectif principal

L'objectif principal de cette étude était de déterminer la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positives et négatives du rapport plasmatique UH2/U mesuré avant le début du traitement, vis-à-vis de la survenue d'une toxicité grade 3-4 (hématologique, diarrhée, vomissement et syndrome main-pied) liée au traitement par capecitabine, au décours du premier cycle, deuxième cycle et dans les 21 jours suivant la fin du deuxième cycle selon les critères CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Event Version 3).

	Day 1 to day 20	Day 21 to day 40	Day 41 to day 60
Anemia	1.4%	1.3%	0.4%
Leuco penia	1.1%	1.7%	0
Neutro penia	1.5%	1.3%	0
Thrombopenia	2.2%	0.4%	0.8%
Diarrhea	2.6%	4.1%	3%
Nausea /Vomiting	1.4%	0.4%	0
Hand-foot syndrome	1.4%	5.7%	7.2%
Neurotoxicity	0.7%	0	0.4%

Table 2 : Détail des toxicités de grade 3-4

Les résultats montrent une toxicité sévère (grade 3-4 sur les critères CTCAE v3) liée à la capecitabine pour 19.6% des patientes pour toute toxicité confondue (toxicité digestive, hématologique et/ou syndrome main-pied), incluant un décès toxique au cycle 1 chez une patiente de 80 ans traitée en monothérapie à la dose de 1528 mg/m²/j (PS 0). La toxicité hématologique et/ou la diarrhée de grade 3-4 étaient observées chez 12.2% des patients. Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre la toxicité et le PS, l'âge de la patiente ou la dose de capecitabine au cycle 1.

Les concentrations pré-thérapeutiques d'uracile variaient entre 4 et 157 ng/ml avec une moyenne de 13.1 et une médiane de 10.6 (N=280), celles d'UH2 variaient entre 6 et 426 ng/ml avec une moyenne de 104 et une médiane de 97 (N=279), et le ratio UH2/U variait entre 0.08 et 36 avec une moyenne de 10.0 et une médiane de 9.5 (N=283).

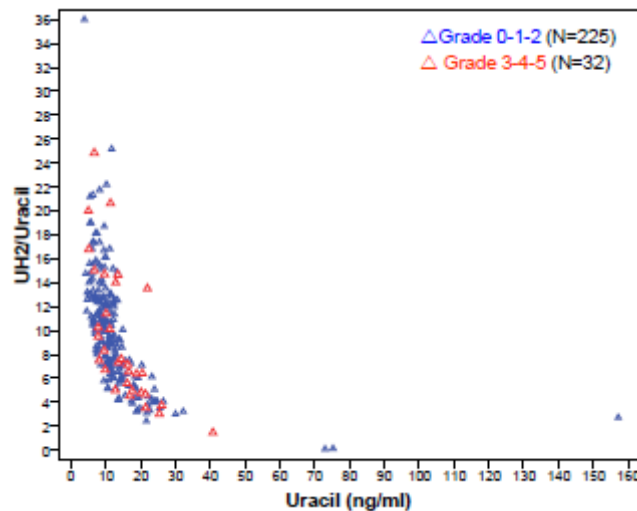


Figure 1 : Graphique des valeurs de l'uracile et du ratio UH2/U versus la toxicité hématologique et/ou diarrhée

	Grade 0 -1-2	Grade 3 -4-5	Statistics
Pre-treatment U (ng/ml)	N=225	N=32	
Median	10.4	13.6	Mann-Whitney : p=0.012
Mean	12.8	14.9	AUC Roc curve : p=0.013
Extremes	4-157	5-41	
Pre-treatment UH2/U	N=227	N=32	
Median	10.0	7.4	Mann-Whitney : p= 0.19
Mean	10.0	9.4	AUC Roc curve : p=0.20
Extremes	0.08-36	1.5-24.9	
Pre-treatment CDA activity (pmol/h/mg mol)	N=205	N=30	
Median	219	228	Mann-Whitney : p=0.56
Mean	252	258	AUC Roc curve : p=0.56
Extremes	42-1680	113-541	
DPYD Genoty pe*			
wt/wt	N=225	N=26	Fischer Exact test : p<0.001
wt/mut	N=1	N=5	

* There was no mut/mut patient

Table 3 : Relation entre le phenotype/genotype DPD et la toxicité hématologique et/ou la diarrhée de grade 3-4-5.

La Figure 1 illustre la distribution des valeurs du rapport UH2/U et de l'Uracile chez les patientes ayant ou non développé une toxicité sévère. Les valeurs d'UH2/U n'étaient pas significativement corrélées avec une toxicité sévère hématologique et/ou de diarrhée (p=0.19) (Table 3), corroborant ainsi les résultats de la courbe de ROC (Figure 2).

Un cut-off à 5 représente la meilleure valeur seuil pour laquelle il est retrouvé un RR de 2.42 (95%CI 1.22-4.81), une sensibilité de 28.1%, une spécificité de 88.1%, une valeur prédictive positive de 25% et une valeur prédictive négative de 89.7% (p = 0.025). A noter que la patiente décédée de son traitement présentait un rapport UH2/U à 6.5 et une concentration d'uracile à 17 ng/ml.

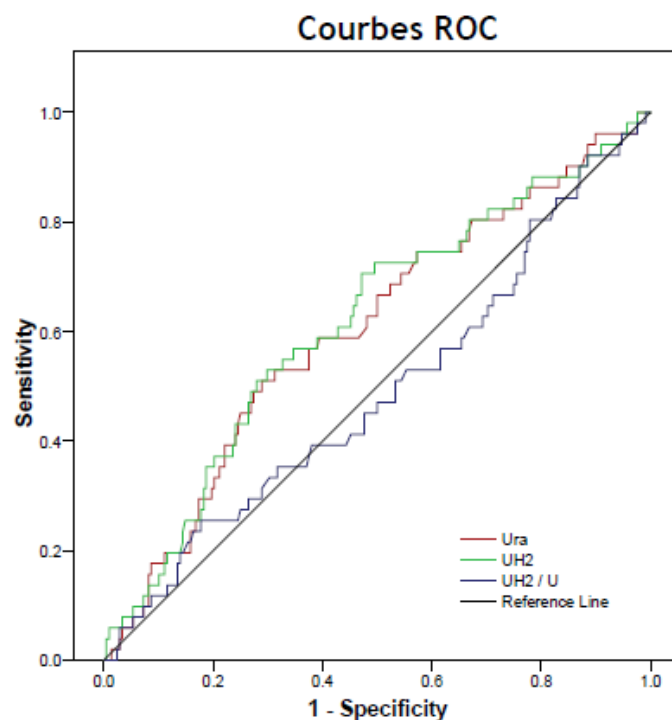


Figure 2 : Courbe de ROC pour les toxicités hématologiques et/ou diarrhée de grade 3-4.

	Sensitivity	Specificity	PPV*	NPV*	RR (95% CI)	Fisher Exact Test
Genotype alone						
Patient with <i>DPYD</i> mutation vs no mutation	16.1%	99.6%	83.3%	89.6%	8.04 (4.83-13.4)	p<0.001
Phenotype alone						
Patient with U>cut-off vs U≤cut-off						
10.6 ng/ml (median)	65.6%	52.9%	16.5%	91.5%	1.95 (0.98-3.93)	p=0.059
12 ng/ml (63 th percentile)	59.4%	65.8%	19.8%	91.9%	2.45 (1.27-4.73)	p=0.010
14 ng/ml (74 th percentile)	46.9%	77.8%	23.1%	91.1%	2.60 (1.38-4.91)	p=0.004
15 ng/ml (78 th percentile)	43.8%	81.8%	25.5%	91.1%	2.86 (1.52-5.37)	p=0.002
16 ng/ml (80 th percentile)	43.8%	83.6%	27.5%	91.3%	3.14 (1.68-5.88)	p=0.001
17 ng/ml (83 th percentile)	34.4%	84.9%	24.4%	90.1%	2.47 (1.28-4.75)	p=0.012
20 ng/ml (90 th percentile)	21.9%	91.6%	26.9%	89.2%	2.49 (1.19-5.18)	p=0.028
Combined approach						
<i>DPYD</i> mutation and/or U>16 ng/ml	50%	83.1%	29.6%	92.1%	3.76 (2.01-7.02)	p<0.001

Table 4 : Estimation de la sensibilité et des valeurs prédictives de l'approche par phénotype et/ou par génotype sur la toxicité hématologique et/ou la diarrhée de grade 3-4-5.

Les résultats de la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives associées à la concentration pré-thérapeutique de l'uracile, sont représentées par la figure 3 (courbe de ROC) et la table 4. Le RR le plus important a été observé à la valeur seuil d'uracile de 16 ng/ml (RR = 3.14, sensibilité 43.8%, spécificité 83.6%, p=0.001).

Une haute concentration d'uracile a été associée significativement à la survenue d'une toxicité sévère hématologique et/ou de diarrhée (p=0.012) (table 3). Ainsi, les patientes développant une toxicité sévère présentaient des concentrations plasmatiques pré-

thérapeutiques significativement supérieures à celles des patientes ne développant pas de toxicité sévère ($p=0.012$), cette différence restant très modeste (Table 3) et corroborant la faible aire sous la courbe de la courbe de ROC (Figure 2).

1.14 Objectifs secondaires

1.14.1 Valeur du génotype germlinal de la TS et de la MTHFR

Un des objectifs secondaires était de tester prospectivement la valeur du génotype germlinal de la TS et de la MTHFR comme facteurs prédictifs de résistance à la capecitabine sur une large population de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique traité par capecitabine en monothérapie ou en association à un anti-angiogénique.

Les données nécessaires pour répondre à cet objectif ne sont pas encore disponibles, mais les analyses sont en cours.

1.14.2 Activité cytidine déaminase

Un des objectifs secondaires était de tester prospectivement la valeur de l'activité cytidine déaminase (CDA, enzyme participant à l'activation métabolique de la capecitabine en activant le 5'DFCR en 5'DFUR) plasmatique sur la toxicité et l'efficacité du traitement par capecitabine.

L'activité CDA plasmatique montrait une forte variabilité inter-sujet, variant entre 42 et 2380 pmol/h/mg prot (moyenne 260, médiane 221, N=258). L'activité CDA pré-thérapeutique était significativement plus élevée chez les patientes avec une toxicité sévère que chez celles ne développant pas de toxicités (médiane de 219 vs 228 pmol/h/mg prot, respectivement, Mann-Whitney $p=0.56$) (Table 3).

La relation avec l'efficacité sera analysée ultérieurement, l'ensemble des évaluations tumorales n'étant pas encore disponibles dans le CRF.

1.14.3 Faisabilité d'un screening à grande échelle du rapport plasmatique UH2/U

Un des objectifs secondaires était d'évaluer la faisabilité pratique d'un screening à grande échelle du rapport plasmatique UH2/U : faisabilité du prélèvement, de son transport vers le laboratoire chargé de l'analyse, et estimation *a posteriori* du délai du rendu du résultat au clinicien.

Les données relatives à cet objectif n'ont pas encore été analysées.

Les paramètres suivants seront analysés :

- Le pourcentage de prélèvements sanguins (UH2/U et génotypage de la DPD) réalisés en accord avec la procédure. Les causes d'échec seront toutes documentées.
- Le temps écoulé entre le moment de la réalisation du prélèvement sanguin et le moment de la réception du prélèvement au laboratoire (UH2/U et génotypage).
- Le temps écoulé entre le moment de la réalisation du prélèvement sanguin et le début du traitement par capecitabine.

1.14.4 Génotypage de la DPYD

Un des objectifs secondaires était de déterminer la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positives et négatives du génotypage de la DPD vis-à-vis des toxicités de grade 3-4 à la capecitabine (toxicité hématologique et/ou diarrhée) au cours des 3 premiers cycles de capecitabine et surtout évaluer le gain de prédictivité apporté par le génotypage par rapport au seul phénotypage (UH2/U).

L'étude de pharmacogénétique inclura les 4 SNPs les plus pertinents : IVS14+1G>A, 2846 A>T, 1679 T>G et 464 T>A.

Sur les 281 patientes génotypées, 7 étaient mutées sur la DPYD (mutations hétérozygotes, Table 5), soit 2.5% de la population. Parmi ces 7 patients :

- 5 ont développé une toxicité sévère (hématologique et/ou diarrhée), incluant une toxicité létale*,
- 1 n'a développé aucune toxicité de grade 3, 4 ou 5,
- et 1 pour laquelle il n'y avait pas d'information pour la toxicité.

Le risque relatif de développer une toxicité sévère est de 8.0 chez les patients mutés versus les patients non mutés (Table 4, $p < 0.001$) ; la spécificité et la sensibilité étaient respectivement de 99.6% et 16.1%. Dans le cas où la toxicité globale était prise en compte, le risque relatif était de 4.60 (95% CI 2.95-7.16, $p = 0.001$), avec une spécificité très élevée de 99.5% mais une sensibilité de 9.8%.

* Toxicité létale : une patiente de 80 ans, de PS 0, avec des métastases pulmonaires et cutanées, et un antécédent d'hypertension artérielle, est décédée au cycle 1 : thrombopénie de grade 4, diarrhée de grade 4, insuffisance rénale de grade 4, dyspnée de grade 5, choc hypovolémique, après avoir reçu la capecitabine en monothérapie à la dose de 1528 mg/m²/day. Cette patiente présentait une mutation hétérozygote (2846 AT), une valeur plasmatique en pré-traitement de l'uracil de 17 ng/ml, un ratio UH2/U de 6.5 et une activité CDA à 320 pmol/h/mg prot.

Patient number	DPYD genotype	Capecitabine dose at cycle 1 (mg/m ² /d)	Number of capecitabine cycle	Toxicity grade 3-4-5	Pre-treatment U (ng/ml)	Pre-treatment UH2/U
01-178	2846 AT	1528	1	Grade 5 at cycle 1	17	6.5
10-154	2846 AT	2484	2	Grade 3 at cycle 2	16	5.6
12-072	2846 AT	1645	3	No toxicity	16	6.4
01-081	IVS 14+1 GA	1961	3	Grade 3 at cycle 3	9.6	8.3
02-206	IVS 14+1 GA	1873	1	Grade 3 at cycle 1	14.5	7.6
16-242	IVS 14+1 GA	1923	3	Not documented	29	3.1
11-057	1679 TG	2409	3	Grade 3 at cycle 2	21	4.7

Table 5 : Toxicité et phénotype (DPD) pour les 7 patients porteurs d'une mutation sur DPYD.

L'approche combinée phénotype/génotype montre que les patientes avec une concentration d'uracile en pré-traitement supérieure à 16 ng/ml et/ou une mutation DPYD (IVS14+1G>A, 2846A>T or 1679T>G) présentaient un risque significativement plus élevé de 3.76 fois (95% CI 2.0-7.0) de développer une toxicité sévère (hématologique et/ou diarrhée). Cette approche combinée a permis d'identifier 50 % des toxicités sévères de grade 3-4-5 (hématologique et/ou diarrhée) avec une spécificité de 83.1% (table 4).

1.14.5 Pharmacocinétique de la capecitabine et de ses métabolites

Un des objectifs secondaires était d'évaluer la pharmacocinétique de la capecitabine et de ses métabolites afin de la mettre en relation avec le rapport UH2/U, le génotype de la DPD et l'activité CDA plasmatique.

Les dosages plasmatiques (capecitabine, 5'DFCR, 5'DFUR, 5FU) ont été réalisés dans les laboratoires de Besançon (N=29) et de Nice (N=13). L'analyse pharmacocinétique a été menée sur une population de 42 patientes (29 de Besançon, 8 de Toulouse et 5 de Nice), dont l'âge moyen était de 61 ans (38-88). La capecitabine a été administrée en monothérapie (N=37) ou concomitamment à l'Avastin (N=4) ou l'Herceptine (N=1). La dose moyenne de Capecitabine était de 1962 mg/m²/j (1190-2500). Les prélèvements pour l'analyse de la pharmacocinétique ont été réalisés sur 5 heures (T0, 30min, 1h, 1h30, 2h, 3 et 5h) au J1 du cycle 1 (N=40) ou au J1 du cycle 2 pour 2 patientes (N=2) (table 6). A noter, qu'il a été observé sur les résultats de cette cinétique un effet centre et un effet dose de capecitabine importants.

	AUC _{0-5h} normalisée (µM.h/g)			
	Moyenne	CV	Médiane	Q1-Q3
Capécitabine	11.3	73 %	8.6	6.6-12.7
5'DFCR	25.3	51 %	24.1	16.9-34.0
5'DFUR	24.3	56 %	21.7	11.6-32.6
5FU	1.7	73%	1.4	0.9-2.3
[5'DFUR+FU] / [5'DFCR]	1.39	153 %	1.03	0.72-1.31
[5'DFUR+FU] / [Total]	0.41	28 %	0.41	0.34-0.48

Table 6 : Résultats des AUC capecitabine et métabolites mesurés sur 5h.

Parmi les 42 patientes, la toxicité n'était documentée que chez 39 patientes. Seules 6 patientes (14,3%) ont développé une toxicité sévère (toxicité hématologique et/ou diarrhée, grade 3-4). Aucune relation n'a été démontrée entre une toxicité sévère et les AUC des analytes. De même, aucune relation n'a été mise en évidence entre une toxicité sévère et le ratio (5'DFUR + 5FU) / (5'DFRC) (figure 3).

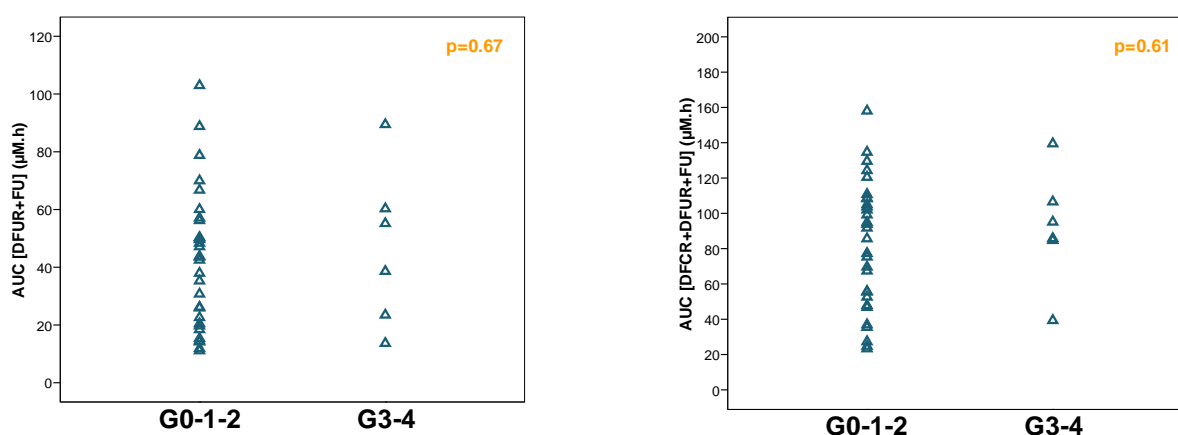


Figure 3 : Graphiques illustrant les résultats des AUC de (DFUR+FU) et de (DFCR+DFUR+FU) versus les toxicités hématologiques et/ou diarrhée de grade 0-1-2 ou 3-4.

Une seule patiente était porteuse d'une mutation DPYD (IVS14+1). Au cycle 1, cette patiente présentait une diarrhée de grade 3. L'analyse de l'AUC de (5'DFUR + 5FU) versus la concentration plasmatique d'uracile montre une influence significative de la mutation chez cette patiente (p=0.029, r=0.35).

1.14.6 Evaluer le coût total (transport des échantillons, coût de laboratoire) de ce screening préthérapeutique basé sur le seul phénotypage (UH2/U) ou sur l'association-phénotypage + génotypage.

Il s'agit d'une étude portant sur l'évaluation médico-économique du génotypage de la *DPYD* pour prévenir les toxicités sévères. Les données ne sont pas encore disponibles ; l'analyse est en cours.

1.14.7 Gène *DPYD* chez les patients ayant développés une toxicité

Enfin, un des objectifs secondaires était également d'analyser de façon exhaustive les 23 exons du gène *DPYD* chez les patients ayant développés une toxicité, afin de mettre en évidence d'éventuels nouveaux polymorphismes de ce gène.

Les échantillons ont été transmis à la compagnie, Integral gene. Les résultats de l'analyse sont en attente.

CONCLUSION

Dans cette étude, aucune corrélation significative entre le ratio UH2/U prétraitement et une toxicité sévère liée à la prise de Capecitabine n'a été démontrée. En revanche, le taux de la concentration d'uracile était significativement plus élevé chez les patients développant une toxicité sévère (toxicité hématologique et/ou diarrhée). L'analyse montrait qu'une patiente avec une concentration supérieure à 16 ng/ml, a 3.14 fois plus de chance de développer une toxicité sévère (RR=3.14). Cependant, l'utilisation de l'uracilémie pour prédire de la réponse à la capecitabine d'une patiente en termes de toxicité reste très limitée du fait d'une sensibilité très faible (44%).

Une forte corrélation a également été démontrée entre la présence d'une mutation DPYD (IVS14+1, 1679, 2846) et le risque d'une toxicité sévère ((toxicité hématologique et/ou diarrhée) qui augmentait jusqu'à 8 fois chez les patientes mutées comparé aux patientes non mutées. Une toxicité létale a été observée chez une patiente mutée au niveau de DPYD. Cependant, seul 2.5% des patientes de l'étude étaient mutées (allèle IVS14+1G>A, 2846 A>T) et la sensibilité d'une telle relation reste très faible, soit 16%.

L'approche combinée phénotype/génotype montrait que l'ajout du génotype augmentait modérément la sensibilité (50%) et le risque relatif (3.8), cependant la spécificité et les valeurs prédictives restaient identiques. En revanche, aucune relation n'a été mise en évidence entre la toxicité et l'activité CDA ou l'analyse pharmacocinétique.

7. CIRCUIT D'APPROBATION

- **Validation médicale** : Pr Jean-Marc FERRERO (investigateur principal)
- **Respect du protocole**: Mme Christine LOVERA (Chef de projet)
- **Assurance de la conformité à la réglementation en vigueur** : Mme Christine LOVERA (Responsable Affaires Règlementaires et Financières)
- **Exportation et validation des données recueillies** : Mr Yann CHATEAU (data manager)
- **Réalisation des analyses statistiques** : Dr Marie-Christine ETIENNE-GRIMALI (méthodologiste - statisticien)
- **Validation des analyses statistiques** : Dr Marie-Christine ETIENNE-GRIMALI
- **Rédaction du rapport de fin d'étude** : Mme Sandrine CHELI (ARC)

8. ANNEXES

1.15 Note d'information et consentement éclairé

NOTE D'INFORMATION DESTINEE AUX PATIENTES

Titre de la recherche :

**Etude pilote de dépistage des sujets déficitaires en dihydropyrimidine
déshydrogénase
- Application au cancer du sein traité par fluoropyrimidine orale -**

Investigateur coordonnateur : Professeur Jean Marc FERRERO

Promoteur :

Centre Antoine Lacassagne – Centre de Lutte contre le Cancer
33 avenue de Valombrose – 06189 NICE CEDEX 2

Madame,

Le Centre Antoine Lacassagne, situé 33 avenue de Valombrose 06189 NICE CEDEX 2, souhaite promouvoir l'étude intitulée : « **Etude pilote de dépistage des sujets déficitaires en dihydropyrimidine déshydrogénase - Application au cancer du sein traité par fluoropyrimidine orale -** » pour laquelle le Professeur Jean Marc FERRERO assurera la fonction d'investigateur coordonnateur.

Nous vous proposons donc de participer à cette étude et nous vous présentons ici les modalités de cette étude afin que vous puissiez en prendre connaissance, ce qui motivera votre acceptation ou votre refus d'y participer.

Le médecin, que l'on appelle aussi médecin-investigateur, qui vous propose cet essai s'appelle Docteur..... Tél :

Il est à votre disposition pour vous apporter toutes les précisions complémentaires que vous souhaiteriez.

Cette étude est réalisée conformément à la Loi 2004-806 relative à la politique de santé Publique (Articles L.1121-1 à 1126-7 du Code de la Santé Publique). Elle a reçu un avis favorable du Comité Protection des Personnes (CPP) Sud Méditerranée V en date du 26 novembre 2008 et reçu l'autorisation de l'autorité compétente (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé) en date du 18 novembre 2008.

Cette étude sera réalisée en conformité avec la réglementation relative à la Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL).

Conformément à l'article 1121-10 du Code de la Santé Publique, le promoteur a souscrit une assurance en responsabilité civile pour cette étude (compagnie BIOMEDICINSURE, numéro de contrat : (2008) 00139.

Votre maladie nécessite un traitement médicamenteux par Xéloda®. Dans ce cadre, nous vous proposons de participer à une recherche dont l'objectif est d'étudier l'existence de liens entre certaines de vos caractéristiques et les effets du traitement médicamenteux qui vous sera administré. A cette fin, des analyses spécialisées seront réalisées au niveau sanguin. Nous analyserons sur votre ADN les caractéristiques de gènes pouvant être liés à l'effet du traitement qui vous sera administré. Nous analyserons également au niveau sanguin des composés physiologiques endogènes (uracile et dihydrouracile, activité cytidine déaminase). Enfin, si votre médecin vous le propose et si vous êtes d'accord, nous analyserons également les concentrations sanguines du médicament qui vous a été administré (étude pharmacocinétique optionnelle).

Si vous acceptez de participer à cette étude pharmacocinétique, vous serez hospitalisée dans le cadre de l'Hôpital de Jour. Cette étude n'entraîne pas de risque particulier, si ce n'est ceux liés à une prise de sang.

De plus, il vous sera demandé, si cela est applicable dans votre cas, de réaliser un test de grossesse et d'observer un moyen de contraception efficace tout au long de l'essai et fortiori du traitement.

Afin de mener cette recherche et de pouvoir en tirer des conclusions, nous sommes amenés à étudier plusieurs cas semblables au vôtre.

Cette étude nécessite un prélèvement sanguin de faible volume (15 ml) qui sera réalisé le matin (aucune nécessité d'être à jeun), 1 à 15 jours avant la date prévue du début de votre traitement. Si vous participez à l'étude pharmacocinétique, des prélèvements sanguins supplémentaires vous seront faits le premier jour de votre traitement. Il s'agira de 7 prélèvements de 10 ml chacun, qui seront réalisés entre le moment où vous prendrez le médicament (par voie orale) et les 5 heures qui suivront. Les concentrations de médicament seront analysées dans ces échantillons qui seront identifiés par un numéro de code garantissant la confidentialité. Un extrait d'ADN (matériel génétique) sera réalisé à partir de votre échantillon sanguin et sera identifié par un numéro de code garantissant la confidentialité. Votre ADN sera stocké pour une durée de 20 ans à -20°C au Laboratoire d'Oncopharmacologie du Centre Antoine Lacassagne à Nice. Les autres prélèvements (plasma) seront détruits à la fin de l'essai.

Le recueil des données vous concernant se fera sur une période de 24 mois durant l'administration de votre traitement.

Votre participation à cette recherche est totalement facultative et ne modifiera en rien votre traitement, ni votre prise en charge par votre médecin traitant. Vous êtes libre d'accepter ou de refuser d'y participer sans que cela nuise à la qualité de votre relation avec votre médecin. Si vous acceptez, votre dossier médical restera naturellement confidentiel et ne pourra être consulté, sous la responsabilité du médecin s'occupant de votre traitement, que par des personnes soumises au secret professionnel.

Vous pourrez également mettre fin à votre participation à cette étude à tout moment, sans avoir à expliquer votre choix, et ce sans conséquence dans vos relations avec votre médecin. Votre choix de mettre un terme à votre participation à cette recherche se traduira par la destruction des échantillons biologiques (ADN, plasma) vous concernant.

Toutes les données recueillies au cours de l'étude seront enregistrées anonymement par un traitement informatisé soumis à la loi "Informatique et Liberté" qui garantit la confidentialité de toutes les données. Cette recherche ne donnera pas lieu à la communication de résultats individuels. Conformément à la loi "Informatique et Liberté", vous avez la possibilité d'exercer vos droits d'accès et de rectification aux données informatisées vous concernant, soit directement, soit indirectement par l'intermédiaire du Docteur

Votre consentement ne décharge pas les organisateurs de l'étude de leurs responsabilités et vous conserverez tous vos droits garantis par la loi. En accord avec la loi du 4 mars 2002, vous serez tenue informée des résultats globaux de cette recherche une fois que celle-ci sera achevée.

Conformément à l'article 1121-11 du code de la Santé Publique, vous bénéficierez, avant votre inclusion dans l'essai, d'un examen médical adapté à la recherche dont les résultats vous seront communiqués lors d'une consultation ultérieure. D'autre part, il est obligatoire pour pouvoir prendre part à cette recherche, que vous soyez affiliée à un régime de sécurité sociale.

Dans le cadre de la recherche biomédicale à laquelle nous vous proposons de participer, un traitement de vos données personnelles va être mis en œuvre pour permettre d'analyser les résultats de la recherche. A cette fin, les données vous concernant seront transmises au promoteur de la recherche. Ces données seront identifiées par un numéro de code et/ou vos

initiales. Vous bénéficiez à tout moment d'un droit d'accès et de rectification des données informatisées vous concernant dans le cadre de cette recherche, conformément aux dispositions légales en vigueur.

En ce qui concerne des données de santé à caractère personnel, ce droit pourra être exercé directement ou par l'intermédiaire du médecin de votre choix (*loi n° 2004-801 du 6 août 2004 modifiant la loi n° 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés*).

Vous serez tenue informée des résultats globaux de la recherche à la fin de l'étude au cours d'une consultation de surveillance ou par courrier à votre demande.

Vous êtes en droit de demander communication, pendant et à la fin de l'étude, des informations vous concernant soit oralement lors d'une consultation, soit par courrier sur simple demande auprès du médecin qui vous suit.

Vous venez de prendre connaissance de la note d'information relative à l'essai clinique que l'on vous a proposé. Aussi, sachez que rien ne vous oblige à participer à cette étude et que si vous refusez vous serez prise en charge de la manière la plus adéquate au traitement de votre maladie.

Nous vous laissons un délai de réflexion suffisant pour que vous puissiez prendre votre décision.

Si vous acceptez de participer, nous vous demandons de signer le consentement éclairé. Ces documents sont réalisés sur du papier dupliqué de façon à ce que vous puissiez en conserver un exemplaire.

CONSENTEMENT ECLAIRE

Je soussignée Mmecertifie

- être affiliée à un régime de sécurité sociale
- avoir pris connaissance de la note d'information relative à l'essai intitulé
« **Etude pilote de dépistage des sujets déficitaires en dihydropyrimidine
déshydrogénase**
- **Application au cancer du sein traité par fluoropyrimidine orale -** »
dont le Promoteur est le Centre Antoine Lacassagne de Nice
auquel le Docteur..... m'a proposé de participer.

Le Docteurm'a clairement expliqué le protocole, m'indiquant que je suis libre d'accepter ou de refuser de participer à cette recherche.

Par ailleurs, afin d'éclairer ma décision, il m'a remis une notice d'information précisant les modalités de déroulement de cette étude.

J'ai pu poser toutes les questions nécessaires notamment sur l'ensemble des éléments déjà cités, afin d'avoir une compréhension réelle de l'information transmise. J'ai obtenu des réponses claires et adaptées afin que je puisse me faire mon propre jugement.

Ma participation est totalement volontaire et je peux si je le désire interrompre ma participation à la recherche à tout moment sans avoir à en préciser les raisons et sans compromettre la qualité des soins qui me sont dispensés.

Mon consentement ne décharge pas les organisateurs de la recherche de leurs responsabilités et je conserve tous mes droits garantis par la loi.

Conformément à la loi n° 2004-806 du 9 août 2004 relative à la politique de santé publique, cette recherche a reçu un avis favorable du Comité Protection des Personnes (CPP) Sud Méditerranée V en date du 26 novembre 2008 et l'autorisation de l'autorité compétente en date du 18 novembre 2008 et a fait l'objet d'une déclaration à la Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL).

Je bénéficie à tout moment d'un droit d'accès et de rectification des données informatisées me concernant dans le cadre de cette étude, conformément aux dispositions légales en vigueur. En ce qui concerne des données de santé à caractère personnel, ce droit pourra être directement exercé par moi ou par l'intermédiaire du médecin de mon choix. (*loi n° 2004-801 du 6 août 2004 modifiant la loi n° 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés*). Dans le cadre de cet essai, une assurance en responsabilité

civile (compagnie BIOMEDICINSURE, numéro de contrat : (2008) 00139) a été souscrite par le Promoteur.

Les résultats globaux de la recherche me seront communiqués, sur demande écrite de ma part à l'investigateur ou lors d'une consultation de surveillance, à la fin de l'étude.

Je peux également demander à tout moment de l'essai des informations concernant mon état de santé.

J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette recherche comportant des données génétiques (ou tout autre type de données) puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par le promoteur. J'ai bien noté que le droit d'accès prévu par la loi du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (article 39) s'exerce à tout moment auprès du médecin qui me suit dans le cadre de la recherche et qui connaît mon identité. Je pourrai exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ce même médecin qui contactera le promoteur de la recherche.

Ayant disposé d'un temps de réflexion suffisant avant de prendre ma décision, et compte tenu de l'ensemble de ces éléments, j'accepte librement et volontairement de participer à cette recherche dans les conditions établies par la loi et telles que précisées dans la note d'information qui m'a été remise.

Je pourrai à tout moment demander des informations complémentaires au Docteur qui sera joignable au

Fait à

**Le / /
Signature du sujet**

**Le / /
Signature de l'investigateur**

Participation à l'étude optionnelle de Pharmacocinétique

Oui ☐

**Le / /
Signature du sujet**

Non ☐

**Le / /
Signature de l'investigateur**

Fait en deux exemplaires : un exemplaire est remis au volontaire, le second exemplaire est conservé par l'investigateur.

Poster de l'ASCO 2013 :

A French prospective pilot study to identify dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency

Table 1

	N	%
Performance status		
0	96	22.0%
1	27	27.2%
2	4	4.0%
3	1	1.0%
Unknown	84	29.8%
Underlying aetia		
Liver	154	23.5%
Bone	147	22.5%
Brain	132	20.2%
Soft tissue	113	17.3%
Classified	27	4.1%
Unfitted nodes	20	3.0%
Unknown	15	2.3%

Cognitive Function		Number of Cognitive Events		Number of Cognitive Events	
Group	Mean	SD	Group	Mean	SD
1	1.0	1.0	1	1.0	1.0
2	1.0	1.0	2	1.0	1.0
3	1.0	1.0	3	1.0	1.0
4	1.0	1.0	4	1.0	1.0
5	1.0	1.0	5	1.0	1.0
6	1.0	1.0	6	1.0	1.0
7	1.0	1.0	7	1.0	1.0
8	1.0	1.0	8	1.0	1.0
9	1.0	1.0	9	1.0	1.0
10	1.0	1.0	10	1.0	1.0
11	1.0	1.0	11	1.0	1.0
12	1.0	1.0	12	1.0	1.0
13	1.0	1.0	13	1.0	1.0
14	1.0	1.0	14	1.0	1.0
15	1.0	1.0	15	1.0	1.0
16	1.0	1.0	16	1.0	1.0
17	1.0	1.0	17	1.0	1.0
18	1.0	1.0	18	1.0	1.0
19	1.0	1.0	19	1.0	1.0
20	1.0	1.0	20	1.0	1.0
21	1.0	1.0	21	1.0	1.0
22	1.0	1.0	22	1.0	1.0
23	1.0	1.0	23	1.0	1.0
24	1.0	1.0	24	1.0	1.0
25	1.0	1.0	25	1.0	1.0
26	1.0	1.0	26	1.0	1.0
27	1.0	1.0	27	1.0	1.0
28	1.0	1.0	28	1.0	1.0
29	1.0	1.0	29	1.0	1.0
30	1.0	1.0	30	1.0	1.0
31	1.0	1.0	31	1.0	1.0
32	1.0	1.0	32	1.0	1.0
33	1.0	1.0	33	1.0	1.0
34	1.0	1.0	34	1.0	1.0
35	1.0	1.0	35	1.0	1.0
36	1.0	1.0	36	1.0	1.0
37	1.0	1.0	37	1.0	1.0
38	1.0	1.0	38	1.0	1.0
39	1.0	1.0	39	1.0	1.0
40	1.0	1.0	40	1.0	1.0
41	1.0	1.0	41	1.0	1.0
42	1.0	1.0	42	1.0	1.0
43	1.0	1.0	43	1.0	1.0
44	1.0	1.0	44	1.0	1.0
45	1.0	1.0	45	1.0	1.0
46	1.0	1.0	46	1.0	1.0
47	1.0	1.0	47	1.0	1.0
48	1.0	1.0	48	1.0	1.0
49	1.0	1.0	49	1.0	1.0
50	1.0	1.0	50	1.0	1.0
51	1.0	1.0	51	1.0	1.0
52	1.0	1.0	52	1.0	1.0
53	1.0	1.0	53	1.0	1.0
54	1.0	1.0	54	1.0	1.0
55	1.0	1.0	55	1.0	1.0
56	1.0	1.0	56	1.0	1.0
57	1.0	1.0	57	1.0	1.0
58	1.0	1.0	58	1.0	1.0
59	1.0	1.0	59	1.0	1.0
60	1.0	1.0	60	1.0	1.0
61	1.0	1.0	61	1.0	1.0
62	1.0	1.0	62	1.0	1.0
63	1.0	1.0	63	1.0	1.0
64	1.0	1.0	64	1.0	1.0
65	1.0	1.0	65	1.0	1.0
66	1.0	1.0	66	1.0	1.0
67	1.0	1.0	67	1.0	1.0
68	1.0	1.0	68	1.0	1.0

Variable	Mean	SD	Range
Age (years)	54.1	10.2	35-75
Gender (male/female)	18/12		
Education (years)	12.5	2.1	8-18

[illegible]

Table 3

	Group 1, n=2	Group 2, n=8	Reference
Age (median) (years)	54 (25)	54 (25)	
Age (range) (years)	52-55	52-55	
Sex			
Male	2 (100)	3 (38)	Male: 100%
Female	0 (0)	5 (62)	Female: 62.5%
Age (median) (years)	54 (25)	54 (25)	Male: 100%
Sex			Female: 62.5%
Male	0 (0)	3 (38)	Male: 37.5%
Female	2 (100)	5 (62)	Female: 62.5%
Age (median) (years)	54 (25)	54 (25)	Male: 37.5%
Sex			Female: 62.5%
Male	0 (0)	3 (38)	Male: 37.5%
Female	2 (100)	5 (62)	Female: 62.5%



Figure 3

CONCLUSIONS

2.5% of the breast cancer patient population diagnosed a CPTG variant with 1915A/152A, 2046 A/T. These variants were not detected in 1000 Genomes or in the Exome Aggregation Consortium (ExAC) database, and we did not start these CPTG variants. A pilot study was planned in a CPTG-related cohort. Furthermore, we did not find related breast susceptibility loci. In contrast, pre-variant C in combination was significantly linked to breast susceptibility across populations. In addition, a 1546G/T variant in the previously identified 15q21 locus was associated with breast cancer susceptibility in the population. These observations may be of interest to breast cancer patients and are candidates for replication studies. We open up broader perspectives for pre-variant studies.

RESULTS

post-treatment blood sample, one patient (in total, 206 patients [94.4%]) without deviation was observed in 2 subsequent cycles (50/50), 65.1% of patients received at least 2 cycles. Mean time interval between pre-treatment and post-treatment blood sample was 1.3 months. The median delay between pre-treatment and post-treatment blood sample was 1.1 months.

and others proved between 4 and

hermaphroditism ranged between 4 and 10% in the 0 and 420 ng/ml (mean 54 ng/ml, $N=215$).

the risk for developing severe COVID-19 (OR 1.95, 95% CI 1.25-3.10, $p=0.001$).

4-(10-A, 20A, 24A, 27 or 30T) and its specificity

200, median 224, No.250). CDA

Q5: dyspnea, hypotensive shock, myel at 1520 mg/m² day (50 years old), patient genotype (2566 A/T), pre-
q post.

Available from the
National Library of
Medicine
www.nlm.nih.gov
pubmed

Lettre d'information N° 6 :



PHRC DPD SEIN
LETTRE D'INFORMATION N° 6
Janvier 2013



Etude pilote de dépistage des sujets déficitaires en dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD):
Application au cancer du sein métastatique traité par capécitabine

Synthèse des résultats sur la toxicité

CONTACTS

- Béatrice DE CLERCQ, Attachée de Recherche Clinique, Tel 04 92 03 16 62
- Marie-Christine ETIENNE-GRIMALDI, Gérard MILANO, Biologistes Coordinateurs, Tel 04 92 03 15 56
- Pr Jean-Marc FERRERO, Investigateur Coordinateur, Tel 04 92 03 13 57

Mot de l'investigateur

Tout d'abord nous vous souhaitons une très belle année 2013 !

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'intérêt du phénotypage de la DPD, enzyme responsable de l'inactivation métabolique du FU en FUH2, par la mesure du rapport des concentrations plasmatiques dihydrouracile/uracile (UH2/U), respectivement produit et substrat physiologique de la DPD), pour dépister les patientes avec cancer du sein susceptibles de développer une toxicité sévère à la capécitabine. Nous vous présentons les premiers résultats de cette étude collaborative GPCO, en termes de relations entre le phénotypage/génotypage de la DPD et la toxicité sévère de la capécitabine. L'impact de l'activité cytidine déaminase (CDA), responsable de l'activation du 5'DFCR (1^{er} anabolite de la capécitabine) en 5'DFUR, a également été analysé. L'analyse des relations avec l'efficacité du traitement (réponse clinique et durée de la réponse) sera réalisée ultérieurement (fin du monitoring planifié en juin 2013).

Patients

Sur les 303 patientes incluses sur 15 sites, 286 patientes sont exploitables au total (i.e. avec données cliniques exploitables et dosage plasmatique dihydrouracile (UH2)/Uracile (U) pré-thérapeutique réalisé). L'âge moyen était de 60 ans (30-88) ; le PS à l'inclusion était de 0 (N=96), 1 (N=78), 2 (N=24) ou 3 (N=4). La grande majorité recevait la capécitabine en monothérapie (88.1%) et 11.9% recevait une thérapie ciblée associée, bevacizumab (N=22), trastuzumab (N=9) ou lapatinib (N=3, écarts au protocole). 27.6% des patientes étaient traitées en 1^{ère} ligne, 36.4% en 2^{ème} ligne, 25.9% en 3^{ème} ligne et 10.1% en 4^{ème} ligne ou plus. L'intensité de dose moyenne au 1^{er} cycle était de 1957 mg/m²/j (extrêmes 65-2590). 91.6% des patientes ont reçu au moins 2 cycles, et 84.3% au moins 3 cycles.

Analyses biologiques

- Phénotypage de la DPD (UH2/U plasmatique pré-thérapeutique, dosage HPLC)

A l'issue du 5^{ème} Contrôle Qualité UH2/U (3 plasmas déplétés et chargés fournis par Angers), l'ensemble des analyses UH2/U a été centralisé sur les CLCCs de Toulouse (E Chatelut, N=116), Nantes (C Bobin-Dubigeon, N=111), et Angers (M Boisdron-Celle, N=66). Un Contrôle Qualité UH2/U inter-essai commun aux 3 laboratoires a été mis en place pour le dosage des plasmas de l'étude (pool plasma volontaire sain fourni par Nice). Ces CQ inter-essai montraient 100% de résultats conformes pour l'UH2 (i.e. 100% des valeurs comprises entre $\pm 15\%$ de la valeur moyenne des 3 laboratoires calculée sur 52 aliquots) et 98% de résultats conformes pour l'U (seul un résultat sur 51 sortait de l'intervalle $\pm 15\%$ de la valeur moyenne, avec une valeur à +22%).

- Génotypage de la DPYD

Le génotypage consistait en l'analyse des polymorphismes IVS14+1G>A, 2846A>T, 1679T>G et 464T>A (CQ inter-laboratoire préalablement validé). Ces analyses ont été réparties entre les CLCC de Nancy (JL Merlin, N=68), Angers (M Boisdron-Celle, N=64), Montpellier (F Pinguet, N=56), Toulouse (E Chatelut, N=44), Caen (A Hardouin, N=2) et les CHU de Besançon (C Ferrand, N=31) et Nîmes (JC Boyer, N=23).

- Phénotypage de la cytidine déaminase (CDA) pré-thérapeutique

La mesure de l'activité CDA plasmatique a été centralisée sur le CLCC de Nice (dosage enzymatique mesurant la formation d'uridine, par HPLC, après incubation en présence de cytidine).



Résultats

La toxicité sévère (critères CTCAE v3) liée à la capécitabine, évaluée au décours des 2 premiers cycles (i.e. dans les 21 jours suivant la fin du cycle 2) a montré une toxicité grade 3-4 chez 19.6% des patientes (tox digestive, hématologique et/ou syndrome main-pied), incluant un décès toxique au cycle 1 chez une patiente de 80 ans traitée en monothérapie à la dose de 1528 mg/m²/j (PS 0).

Les concentrations pré-thérapeutiques (médiane 4 j avant le début du traitement) d'uracile variaient entre 4 et 157 ng/ml (moyenne 13.1, médiane 10.6), celles d'UH2 variaient entre 6 et 426 ng/ml (moyenne 104, médiane 97) et le ratio UH2/U variait entre 0.08 et 36 (moyenne 10.0, médiane 9.5). Les concentrations d'UH2 et d'U étaient étonnamment corrélées positivement, quoique très faiblement (Spearman $r=0.17$, $p=0.005$).

La Figure 1 illustre la distribution des valeurs du rapport UH2/U et de l'uracile chez les patientes ayant ou non développé une toxicité sévère. Les valeurs d'UH2/U n'étaient pas significativement différentes en fonction de la toxicité (Table 1), corroborant la courbe ROC (Figure 2). L'application de la valeur seuil d'UH2/U de 6 antérieurement établie par l'équipe d'Angers dans le cancer colique traité par FU (voir ref), et correspondant au 19^{ème} percentile de notre population, donne un Risque Relatif à 1.01 (IC95% = 0.55-1.89, $p=0.97$). La patiente décédée de son traitement présentait un rapport UH2/U à 6.5 et une concentration d'uracile à 17 ng/ml.

Pour l'uracile, comme attendu les patientes développant une toxicité sévère présentaient des concentrations plasmatiques pré-thérapeutiques significativement supérieures à celles des patientes ne développant pas de toxicité sévère, cette différence restant très modeste (Tableau 2), corroborant la faible AUC de la courbe ROC (Figure 2). A titre d'exemple, les sensibilités et spécificités étaient respectivement de: 84.6% et 22% pour le 20^{ème} percentile correspondant à la fréquence des toxicités sévères observées (7.7 ng/ml, χ^2 2 $p=0.29$); 59.6% et 54.5% pour la valeur médiane d'uracile (10.6 ng/ml, χ^2 2 $p=0.07$); 30.8% et 80.9% pour le seuil antérieurement établie par l'équipe d'Angers dans le cancer colique traité par FU (15 ng/ml (voir ref), correspondant au 78^{ème} percentile dans notre population, χ^2 2 $p=0.07$).

La Table 1 et la Figure 2 montrent également une tendance pour l'UH2, quoique contre-intuitive, avec des concentrations pré-thérapeutiques plus élevées chez les patientes développant une toxicité sévère.

Sur les 281 patientes génotypées, 7 étaient mutées sur la DPYD (mutations hétérozygotes, Tableau 2), soit 2.5% de la population, incluant la patiente ayant développée une toxicité létale. Le risque relatif de développer une toxicité sévère chez un patient muté était 4.60 fois supérieur à celui d'un patient non muté (IC95% du RR = 2.95 - 7.16, χ^2 2 $p=0.001$). Les valeurs prédictives positive et négative du génotypage étaient respectivement de 83.3% et 81.9%, avec une spécificité très élevée (99.5%), cependant moins de 10% des patientes développant une toxicité sévère présentaient une mutation (sensibilité = 9.8%).

L'activité CDA plasmatique montrait une forte variabilité inter-sujet, variant entre 42 et 2380 pmol/h/mg prot (moyenne 260, médiane 221, N=258). L'activité CDA pré-thérapeutique était plus élevée chez les patientes avec toxicité sévère (moyenne 269, médiane 249) que chez celle ne développant pas de toxicité (moyenne 249, médiane 210), mais cette différence n'était pas significative (Mann-Whitney, $p=0.07$).

Conclusions

Cette étude prospective menée sur une population de 286 patientes avec cancer du sein suggère que la sensibilité et la spécificité du rapport des concentrations plasmatiques UH2/U, ou de l'uracile seul, ne leur permettent pas d'être utilisés comme marqueurs prédictifs de la toxicité sévère à la capécitabine.

Par contre, la présence d'un allèle variant de la DPYD en position IVS14+1G>A, 2846A>T ou 1679T>G est significativement associée à un risque accru de toxicité sévère à la capécitabine (Risque Relatif de 4.6) et 83.3% des patientes porteuses d'un allèle variant développent une toxicité sévère à la capécitabine. Cependant seules 9.8% des patientes avec toxicité sévère sont porteuses d'un de ces 3 polymorphismes. Il est à noter que la seule patiente ayant développé une toxicité létale à la capécitabine était porteuse d'un allèle variant du gène DPYD.

Référence

Boidron-Celle M, Renaud G, Traore S, Poirier AL, Gamelin L, Morel A, Gamelin E. 5-Fluorouracil-related severe toxicity: a comparison of different methods for the pretherapeutic detection of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. Cancer Lett. 2007 May 8;249(2):271-82.

Echéancier prévisionnel

Scientifique

- Analyses pharmacocinétiques (44 patientes) achevées au plan des dosages plasmatiques (capécitabine, 5'DFCR, 5'DFUR, FU) réalisés sur Nice et Besançon ; modélisation PK en cours.
- Analyse des liens entre la pharmacocinétique de la capécitabine et le phénotypage de la DPD et/ou de la CDA planifiée pour le 1^{er} trimestre 2013.
- Evaluation médico-économique du génotypage de la *DPYD* pour prévenir les toxicités sévères, en cours (1^{er} trimestre 2013).
- Séquençage du gène *DPYD* planifié, ainsi que le génotypage de la *CDA*, *TYMS* et *MTHFR* (1^{er} semestre 2013).
- Analyse de la valeur prédictive des génotypes de la *TYMS*, *MTHFR*, *DPYD* et *CDA* sur l'efficacité planifiée (2^{ème} semestre 2013).

Exploitation

- ASCO 2013
- Publication commune
- Demande de crédits pour extension des analyses sur ADN.

Figure 1

Grade 0-1-2 (▲ N=212) Grade 3-4 (△ N=51)

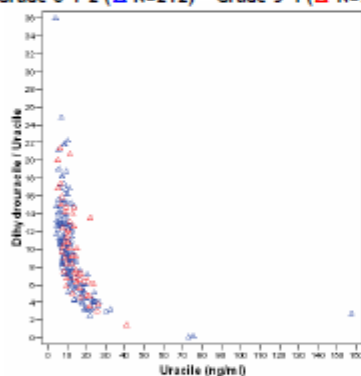


Figure 2

Courbes ROC

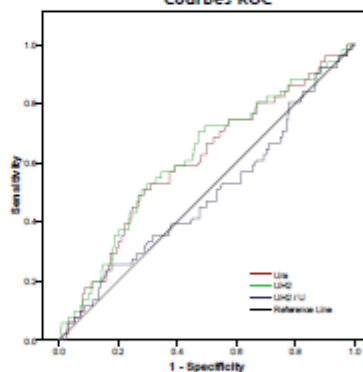


Tableau 1

	Grade 0-1-2	Grade 3-4	Mann-Whitney	AUC courbe ROC (vs 0.5)
Uracile (médiane)	10.2 ng/ml	12.7 ng/ml	p = 0.014	p = 0.023
UH2 (médiane)	93 ng/ml	110 ng/ml	p = 0.011	p = 0.011
UH2/U (médiane)	9.6	9.1	p = 0.80	p = 0.83

Tableau 2

Génotype DPYD	Dose capecitabine au cycle 1 (mg/m ²)	Toxicité Grade 3-4-5 (N=51)	Nb de cycles réalisés	Uracile (ng/ml)	UH2 /U
2846 AT	1528	grade 5 au cycle 1	1	17	6,5
2846 AT	2484	grade 3 au cycle 2	2	16	5,6
2846 AT	1645	Pas de toxicité	3	16	6,4
IVS 14+1 GA	1961	grade 3 au cycle 3	3	9,6	8,3
IVS 14+1 GA	1873	grade 3 au cycle 1	1	14,5	7,6
IVS 14+1 GA	1923	Non documentée	3	29	3,1
1679 TG	2409	grade 3 au cycle 2	3	21	4,7