

Received: 30.11.2016  
Accepted: 12.10.2017  
Published: 02.03.2018

## Monitorowanie terapii 5-FU – bezpieczeństwo i skuteczność leczenia?

### Monitoring of the 5-FU therapy: Safety and efficacy of treatment?

Angelika Szczęśniak, Aleksandra Goryniak, Daria Śleboda, Barbara Dołęgowska

Katedra Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

#### Streszczenie

5-Fluorouracyl (5-FU) jest jednym z najczęściej stosowanych chemioterapeutyków podczas terapii chorych na raka jelita grubego, przełyku, odbyticy, piersi, skóry oraz okolic głowy i szyi. Głównym enzymem metabolizującym lek jest dehydrogenaza dihydropyrimidynowa (DPD), kodowana przez gen *DPYD*, odpowiadająca za katabolizm około 80% podanego 5-FU. U pacjentów z niedoborem DPD występuje duże ryzyko rozwoju ciężkiej, niekiedy letalnej toksyczności tego chemioterapeutyku. Nieliniowa farmakokinetyka 5-FU oraz bardzo wąski indeks terapeutyczny w znacznym stopniu utrudniają prognozowanie reakcji organizmu po podaniu standardowej dawki leku. Bardzo istotne jest więc indywidualne dostosowanie optymalnej dawki tak, aby uzyskać możliwie najlepszy skutek terapeutyczny przy minimalnych działaniach niepożądanych.

Powszechnie przyjęta metoda doboru dawki oparta na wskaźniku powierzchni ciała (body surface area, BSA) nie umożliwia ustalenia stężenia leku, zapewniającego najwyższą skuteczność leczenia, przy zachowaniu jego bezpieczeństwa.

Wiele jest dostępnych prac wskazujących na konieczność oznaczania aktywności dehydrogenazy dihydropyrimidynowej przed podaniem 5-FU, które powinno umożliwić dobranie dawki pozwalającej na uzyskanie pożądanego i optymalnego stężenia leku we krwi pacjenta bez narażania go na nadmierne działanie toksyczne. Obecnie, mimo dużego zapotrzebowania, badania nie są wykonywane rutynowo.

Opracowanie procedury obejmującej oznaczenie aktywności DPD, ustalenie dawki 5-FU oraz monitorowanie stężenia chemioterapeutyku podczas leczenia może się stać podstawą do opracowania nowych standardów terapeutycznych w onkologii, a dzięki temu w znaczący sposób wpłynąć na jakość i długość życia pacjentów.

#### Słowa kluczowe:

5-fluorouracyl • dehydrogenaza dihydropyrimidynowa • *DPYD* • chemioterapia • toksyczność • monitorowanie terapii

#### Summary

5-fluorouracil (5-FU) is one of the most common chemotherapeutics used in the therapy of cancers of the gastrointestinal tract, breast, skin or head and neck. The key enzyme of drug metabolism is encoded by *DPYD* dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD), which is responsible for the catabolism of 80% of the administered 5-FU. Patients with DPD deficiency are exposed to a high risk of severe and sometimes lethal toxicity during treatment. Nonlinear pharmacokinetics and narrow therapeutic index significantly hinder the prediction of response of the body

<b>Keywords:</b>	<p>after administration of a standard dose. Therefore, the individual adjustment of the optimal dose enabling the best possible therapeutic effect with minimal side effects is very important.</p> <p>The commonly accepted method of adjusting 5-FU dose is based on the body surface area (BSA). Unfortunately, this does not allow us to determine the drug concentration ensuring the highest effectiveness of the treatment while maintaining its safety.</p> <p>Many publications point out the need of determining the activity of dihydropyrimidine dehydrogenase before the administration of 5-FU, which could result in obtaining the desired and optimal drug concentration in the blood, without exposing the patient to its excessive toxicity. Despite the great needs, such tests are not carried out routinely.</p> <p>Specification of procedures of DPD activity indication, determination of optimal 5-FU doses and monitoring of concentration of this chemotherapeutic during the treatment can become the basis for establishing some new therapeutic standards in the oncology, and in consequence, may significantly influence the quality and length of life of the patients.</p>
<b>Keywords:</b>	<b>5-fluorouracil • dihydropyrimidine dehydrogenase • DPYD • chemotherapy • toxicity • monitoring of therapy</b>
<b>GICID:</b>	01.3001.0011.5962
<b>DOI:</b>	10.5604/01.3001.0011.5962
<b>Word count:</b>	3028
<b>Tables:</b>	3
<b>Figures:</b>	2
<b>References:</b>	43

**Adres autorki:** mgr Angelika Szczęśniak, Zakład Medycyny Laboratoryjnej, Katedra Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej PUM, al. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin; e-mail: angelika.szczesniak@pum.edu.pl

## WSTĘP

Monitorowanie stężeń terapeutycznych (therapeutic drug monitoring, TDM) polega na analizie stężeń podawanych leków we krwi pacjentów w celu optymalizacji ich dawkowania. W warunkach klinicznych wskazaniami uzasadniającymi tego typu postępowanie jest stosowanie leków o wąskim indeksie terapeutycznym, dużym zróżnicowaniu międzyosobniczym zależności dawka-skutek oraz nieliniowej farmakokinytyce. W przypadku takich leków dawka konieczna do wywołania działania terapeutycznego jest niewiele niższa od dawki prowadzącej do wystąpienia objawów niepożądanych, a stosowanie stałych dawek nie zapewnia utrzymania ich poziomu leczniczego. Ponadto, u każdego pacjenta występują różnice w szybkości wchłaniania, metabolizmie, dystrybucji i eliminacji farmaceutyków, wynikające m.in. z wieku, stanu zdrowia, czynników genetycznych, interakcji z innymi przyjmowanymi lekami, jak również pory dnia [21,35].

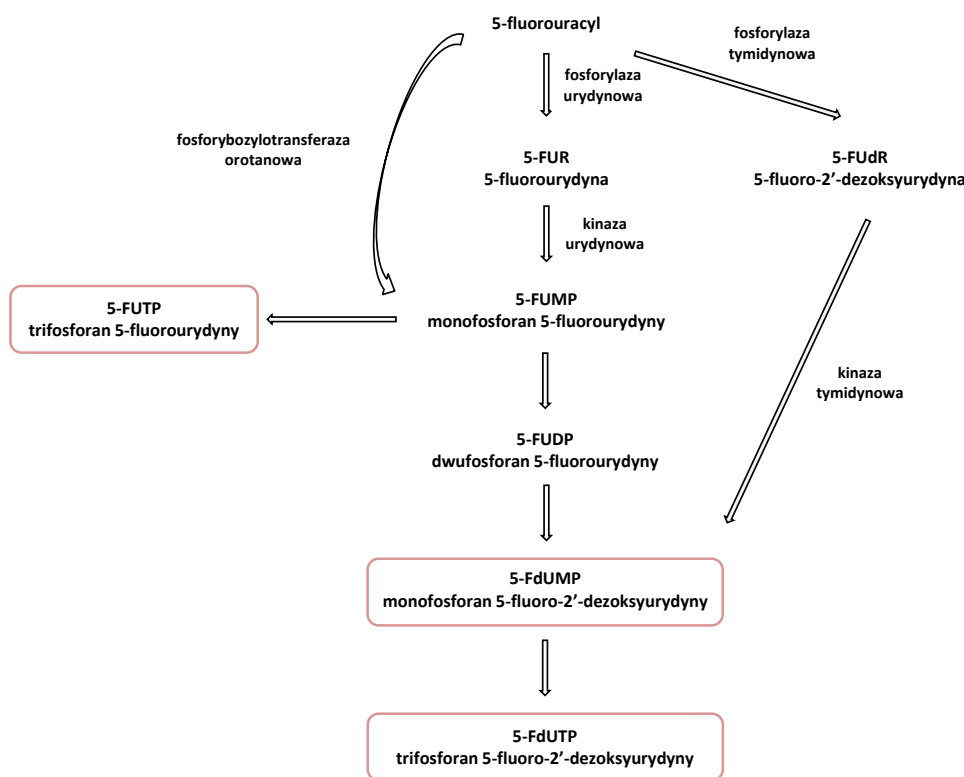
Podczas terapii przeciwnowotworowej chorzy są poddawani najczęściej długotrwałemu leczeniu chemioterapeutykami, które wyniszczą organizm. Stosowanie standardowych schematów leczenia może spowodować wystąpienie objawów ciężkiej toksyczności, a w skrajnych przypadkach nawet do zgonu. Jednak

przyspieszony metabolizm leku może być przyczyną nieosiągnięcia dawki terapeutycznej i braku skuteczności leczenia. Dlatego też istotnym wydaje się wprowadzenie TDM, jako podstawy strategii leczenia pacjentów z chorobami nowotworowymi [5,18].

## 5-FLUOROURACYL – OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA

5-Fluorouracyl (5-FU) jest fluorowaną pochodną pirymidyny, antymetabolitem należącym do grupy powszechnie stosowanych leków przeciwnowotworowych. Mimo iż został wprowadzony do leczenia ponad 50 lat temu, pozostaje jednym z najczęściej stosowanych chemioterapeutyków w terapii chorych na raka jelita grubego, przełyku, odbytnicy, piersi, skóry oraz okolic głowy i szyi [5,16,17,19,20,31,32,37,39]. Podstawowy mechanizm działania 5-FU polega na zaburzaniu biosyntezy kwasów nukleinowych oraz hamowaniu podziałów komórek, co sprawia, że szczególnie wrażliwymi na ten lek są komórki aktywnie syntetyzujące DNA [18,43].

Nieliniowa farmakokinytyka 5-FU oraz bardzo wąski indeks terapeutyczny w znacznym stopniu utrudniają prognozowanie reakcji organizmu po podaniu standardowej dawki leku. Po zastosowaniu tej samej dawki u różnych pacjentów można zaobserwować zupełnie



Ryc. 1. Szlak anaboliczny 5-fluorouracylu

odmienne reakcje na lek [3,31]. Dlatego bardzo istotne jest indywidualne ustalenie optymalnej dawki tak, aby uzyskać możliwie najlepszy wynik terapeutyczny przy minimalnych działaniach niepożądanych.

### METABOLIZM 5-FLUOROURACYLU

Chemioterapeutyk jest metabolizowany na dwóch szlakach: anabolicznym i katabolicznym. W wyniku procesów anabolicznych powstają cytotoksyczne nukleotydy, które powodują śmierć zarówno zdrowych, jak i nowotworowo zmienionych komórek. We wnętrzu komórki 5-FU ulega wielu przemianom, w wyniku których powstają jego aktywne metabolity (ryc. 1). Monofosforan 5-fluoro-2'-dezoksyurydyny (5-FdUMP) tworzy stabilny kompleks z syntazą tymidylanową (TS), blokuje jej aktywność, a to zaburza syntezę i naprawę DNA. Trifosforan 5-fluoro-2'-dezoksyurydyny (5-FdUTP) jest włączany do DNA, powodując utratę jego integralności. Trifosforan 5-fluorouracydyny (5-FUTP) jest wbudowywany do wszystkich rodzajów RNA, zaburzając w ten sposób zarówno funkcje RNA, jak i biosyntezę białek [28,31,43].

Katabolizm natomiast prowadzi do powstania nieaktywnych farmakologicznie metabolitów wydalanych z moczem lub żółcią [43]. Prawie 80% podanej dawki

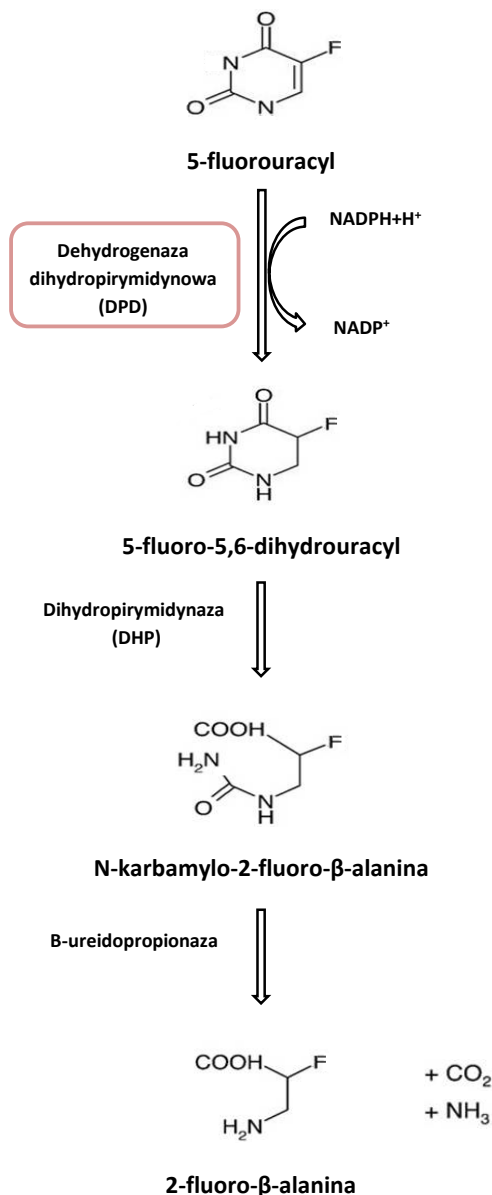
5-FU ulega przemianom katabolicznym, a ich nasilenie jest istotnie związane z siłą działania leku. Głównym enzymem regulatorowym przemian jest dehydrogenaza dihydropirymidynowa (DPD) [28].

W wątrobie, w wyniku zależnej od NADPH+H<sup>+</sup> reakcji katalizowanej przez DPD, 5-FU ulega redukcji do nieaktywnego metabolitu – 5-FUH<sub>2</sub> (5-fluoro-5,6-dihydrouracylu), który w obecności innych enzymów podlega przemianom do wydalanej z moczem 5-fluoro-β-alaniny (ryc. 2) [27,29,32,40].

### DEHYDROGENAZA DIHYDROPIRYMIDYNOWA – WPLYW MUTACJI GENU *DPYD* NA AKTYWNOŚĆ ENZYMU

Dehydrogenaza dihydropirymidynowa (EC.1.3.1.2) jest enzymem obecnym w wielu tkankach i narządach. Jego największą aktywność stwierdzono w wątrobie oraz jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) [27].

Badania przeprowadzone wśród pacjentów z chorobami nowotworowymi dowodzą występowania istotnej korelacji między aktywnością DPD w PBMC, a ogólnym klinicznym 5-FU [40]. Zarówno stężenie, jak i aktywność DPD charakteryzuje duża zmienność osobnicza, co w istotny



Ryc. 2. Szlak katabolizmu 5-fluorouracylu

sposób wpływa na zróżnicowane stężenia chemioterapeutyku we krwi pacjentów. U chorych ze skrajnie dużymi stężeniami 5-FU w surowicy stwierdza się całkowity lub prawie całkowity brak enzymu [3,11]. Szacunkowo, częściowy niedobór DPD występuje u około 3-5%, a całkowity u około 0,1% populacji [31,34]. Jest to spowodowane głównie mutacjami w obrębie genu *DPYD* kodującego ten enzym. Do tej pory zidentyfikowano ponad 30 zmian, wśród których najlepiej poznana, występująca u 52% pacjentów ze zmniejszoną aktywnością DPD, jest mutacja G>A końca 5' intronu 14 (IVS14+1G>A). Warunkuje powstanie allelu znanego jako *DPYD\*2A*, który odpowiada za powstawanie nieprawidłowego, pozbawionego całego eksonu 14 mRNA oraz białka enzymatycznego

o skróconej sekwencji aminokwasowej, ulegającego szybkiej degradacji (ryc. 3) [4,17,29,31,34].

Badania kliniczne wskazują również na silny związek innych wariantów. *DPYD\*13* (1679 T>G; I560S), mimo rzadkiego występowania w populacji ogólnej, wykazuje znaczącą zależność z obniżoną aktywnością DPD oraz częstsze występowanie działań niepożądanych wywołanych farmakoterapią 5-FU. Podczas analizy genotypu pacjentów, u których stwierdzono wystąpienie ostrej toksyczności po podaniu chemioterapeutyku wykazano również duży wpływ mutacji D949V (2846A>T) w 22 eksonie genu, a także częste występowanie wariantów *DPYD\*5* (T>C), *DPYD\*6* (C>T) i *DPYD\*9A* (A>G) [6,26].

Dostępnych jest wiele testów zalecanych do analizy znanych wariantów polimorficznych genu *DPYD* (tabela 1).

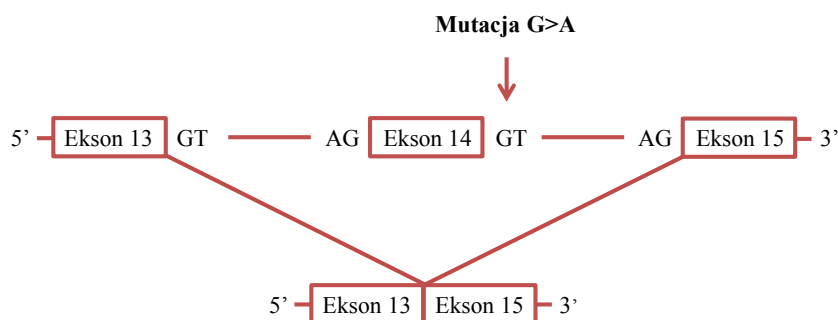
### AKTYWNOŚĆ DEHYDROGENAZY DIHYDROPIRYMIDYNOWEJ A DZIAŁANIE 5-FU

Niedobór DPD powoduje akumulację 5-FU w organizmie, co jest przyczyną zwiększonej toksyczności tego chemioterapeutyku. U chorych z bardzo dużymi stężeniami 5-FU w surowicy obserwuje się wiele objawów niepożądanych, do których należą m.in. neutropenia, trombocytopenia, leukopenia, zapalenie błony śluzowej przewodu pokarmowego, zaburzenia ruchowe, sprawności intelektualnej, łysienie, nudności, wymioty, biegunkę, zaburzenia sercowo-naczyniowe, a w najcięższych przypadkach nawet śmierć [17,22,31].

Klirens 5-fluorouracylu poza aktywnością DPD zależy również od dawki, drogi oraz schematu podania, powierzchni ciała pacjenta (body surface area, BSA), masy, płci i wieku [31]. Obecnie powszechnie przyjętym sposobem doboru dawki 5-FU jest schemat oparty na wskaźniku BSA uwzględniającym płeć i masę ciała, jednak przy obliczonej na jego podstawie, jednakowej dawce stężenie leku we krwi poszczególnych pacjentów może się różnić nawet 10-krotnie [5,27]. W związku z tym najważniejsze znaczenie w badaniach przesiewowych poprzedzających chemioterapię 5-fluorouracyłem powinno mieć oznaczenie aktywności DPD.

### JAK PRZEWIDYWAĆ AKTYWNOŚĆ DEHYDROGENAZY DIHYDROPIRYMIDYNOWEJ?

Obecnie znanych jest wiele metod oznaczania aktywności DPD. Należą do nich m.in. analiza polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphism, SNP) w obrębie genu *DPYD*, pomiar ekspresji mRNA genu, oznaczenia aktywności DPD w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC), pomiar stężenia uracylu w surowicy oraz moczu, wyznaczenie wartości współczynnika UH<sub>2</sub>/U (dihydrouracyl/uracyl), ocena stężenia (2-C<sup>13</sup>)-uracylu w wydychanym powietrzu czy też oznaczanie stężenia fluorouracylu oraz 5-FUH<sub>2</sub> (dihydrofluorouracylu) w surowicy po podaniu dawki testowej [27].



**Ryc. 3.** Mutacja IVS14+1G>A w obrębie genu *DPYD*

**Tabela 1.** Testy zalecane do analizy wariantów genu *DPYD*

	Analizowany wariant genu
TheraGuide 5-FU	analiza całej sekwencji genu <i>DPYD</i>
5-Fluorouracil (5-FU) Toxicity and Chemotherapeutic Response, 5 Mutations	<i>DPYD</i> *13 <i>DPYD</i> *2A rs67376798
GenPath Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) Gene Mutation Analysis (DPD 5-FU)	<i>DPYD</i> *2A
EntroGen <i>DPYD</i> Genotyping Kit – Fluorouracil Toxicity	<i>DPYD</i> *2A
Labcorp DPD 5-Fluorouracil Toxicity	<i>DPYD</i> *2A
Quest Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) Gene Mutation Analysis	<i>DPYD</i> *2A
23andMe Fluorouracil Toxicity	<i>DPYD</i> *2A
5-FU GenoChip (PharmGenomics)	<i>DPYD</i> *2A <i>DPYD</i> *3 <i>DPYD</i> *4 <i>DPYD</i> *5 <i>DPYD</i> *6 <i>DPYD</i> *7 <i>DPYD</i> *8 <i>DPYD</i> *10 <i>DPYD</i> *12 <i>DPYD</i> *13 DPYD M166V DPYD A551T DPYD D949V

Badania genetyczne, ze względu na liczbę znanych mutacji w obrębie genu kodującego DPD, zdają się mieć ograniczoną przydatność, dlatego też przy opracowaniu procedury monitorowania terapii 5-FU u pacjentów z chorobą nowotworową największą wartość mają metody oparte na oznaczaniu aktywności dehydrogenazy dihydropyrimidynowej w PBMC oraz ocenie wartości współczynnika UH2/U (tabela 2) [12].

Opisane metody, mimo dużej skuteczności w diagnozowaniu osób z deficytem DPD mają ograniczenia. Na wyniki oznaczeń w PBMC duży wpływ wywierają dobowe wahania aktywności DPD. W celu ich zminimalizowania pomiary należy wykonywać zawsze o tej samej porze dnia – między 8:00 i 11:00. Ponadto, badanie jest czasochłonne, wymaga pobierania dużych objętości próbek krwi oraz często użycia standardów znakowanych izotopowo [31]. W ocenie warto-

**Tabela 2.** Metody oznaczanie aktywności dehydrogenazy dihydropirydynowej

	Metody
Oznaczenie aktywności w PBMC	RP HPLC Oznaczenie <sup>14</sup> C-dihydrofluorouracylu - produktu reakcji katalizowanej przez DPD, dla której substratem jest <sup>14</sup> C-fluorouracyl [24]
	RP HPLC Oznaczenie 4- <sup>14</sup> C-dihydrotyminy - produktu reakcji katalizowanej przez DPD, dla której substratem jest 4- <sup>14</sup> C-tymina
	RP HPLC Oznaczenie 5-dihydrofluorouracylu - produktu reakcji katalizowanej przez DPD, dla której substratem jest 5-fluorouracyl [9,24].
	HPLC – MS/MS Oznaczenie dihydrotyminy - produktu reakcji katalizowanej przez DPD, dla której substratem jest tymina [24,37].
	Metody spektrofotometryczne Pomiar spadku absorbancji przy 340 nm, wynikający ze zmniejszenia stężenia NADPH+H <sup>+</sup> podczas redukcji tyminy do dihydrotyminy [10]. Pomiar wzrostu absorbancji przy 260 nm w wyniku wzrostu stężenia uracylu powstającego podczas utleniania dihydrouracylu, któremu towarzyszy redukcja NADP <sup>+</sup> [10].
Ocena wartości współczynnika UH2/U	RP HPLC Detekcja uracylu i 5-FC przy długości fali 260 nm, zaś dihydrouracylu przy 210 nm [11].
	HPLC-UV Detekcja 5-FU i 5-BrU przy 254 nm, uracylu i dihydrouracylu przy 210 nm [6].

ści współczynnika UH2/U, na zmiany stężeń duży wpływ ma sposób odżywiania, dlatego też pacjenci przed pobraniem krwi powinni być co najmniej 10 godzin na czczo [31].

### OZNACZENIA DPD W PRAKTYCE

Przeprowadzone dotąd badania umożliwiły wyznaczenie zakresów wartości prawidłowych aktywności DPD [4,7,8,24,31,42]. Milano i wsp. oznaczali w limfocytach krwi obwodowej osób chorych na nowotwór poddanych chemioterapii 5-FU, u których wystąpiły objawy toksyczności. Do badań wykorzystali metodę HPLC z zastosowaniem <sup>14</sup>C-FU jako substratu dla reakcji katalizowanej przez DPD. Przyjęto, że prawidłowa aktywność enzymu jest większa lub równa 150 pmol/mg<sub>białka</sub>/min, a poniżej 100 pmol/mg<sub>białka</sub>/min jest znacząco zmniejszona. Częstość pojawiania się działań niepożądanych u pacjentów z aktywnością DPD poniżej 100 pmol/mg<sub>białka</sub>/min była dwukrotnie większa niż u pacjentów ze względnie niedoborem DPD (100-150 pmol/mg<sub>białka</sub>/min) [24]. Ciccolini i wsp. oceniali natomiast współczynnik U/UH2. U pacjentów ze zmniejszoną aktywnością DPD, przyjmujących 5-FU lub jego doustny prolek capecytabinę, stwierdzono zwiększony współczynnik U/UH2 do wartości powyżej 2,0 [8].

Oznaczanie aktywności DPD przed podaniem 5-FU powinno umożliwić dobranie dawki leku pozwalającej na uzyskanie pożądanego i optymalnego stężenia leku we krwi pacjenta bez narażania go na nadmierne działania toksyczne. Ważne jest także opracowanie schematów

modyfikacji dawki leku, aby osiągać i utrzymywać stężenie terapeutyczne 5-FU w następnych cyklach leczenia [5,14].

### MONITOROWANIE STĘŻENIA 5-FU – KONTROLA PODCZAS LECZENIA

Do oceny farmakokinetyki 5-FU wykorzystuje się metody oparte na rozdziale chromatograficznym, polegające na wyodrębnieniu z mieszaniny poszczególnych jej składników oraz oznaczeniu ich stężenia, a także testy immunochemiczne [5]. Stosunkowo nową, czułą i swoistą metodą jest chromatografia cieczowa w połączeniu z tandemową spektroskopią masową (LC-MS/MS). Jednak ze względu na bardzo wysokie koszty sprzętu oraz analizy, jest to technika rzadko stosowana w rutynowych badaniach klinicznych [33]. Obecnie do analizy stężenia 5-fluorouracylu w osoczu pacjentów najczęściej wykorzystuje się wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC). Dostępne są liczne prace dotyczące optymalizacji dawki 5-FU z wykorzystaniem HPLC [1,9,13,14,21,25,30].

Farmakokinetycznym wskaźnikiem najbardziej związanym z biologicznymi skutkami leczenia 5-FU jest pole pod krzywą zależności stężenia leku od czasu (AUC) [5]. Najkorzystniejsze wyniki chemioterapii zaobserwowano dla AUC leku mieszczącego się w granicach 25-30 mg·h/l, a jego zwiększenie ponad 30 mg·h/l było przyczyną bardzo dużego wzrostu toksyczności. U pacjentów, u których po podaniu leku wystąpiły działania niepożądane stwierdzono większe wartości AUC i C<sub>max</sub> (stężenie maksymalne), w porównaniu z osobami, u których nie

zaobserwowano toksycznych działań spowodowanych 5-fluorouracylem [31].

Na podstawie przeprowadzonych badań przyjęto optymalną dawkę terapeutyczną 5-FU w zakresie stężeń 2,5-3,0 mg/l [11,15,31]. Thyss i wsp. [36] przy AUC >30 mg·h/l obserwowali u chorych występowanie leukopenii, zapalenia błon śluzowych i biegunki. Gamelin i wsp. [15] obecność pierwszych objawów toksyczności (biegunka, zespół dłoniowo-podeszwowy stopnia 1 i 2) stwierdzili już przy stężeniu 5-FU 2,5-3,0 mg/l, a zespołu dłoniowo-podeszwowego stopnia 3, gdy stężenie chemioterapeutyku przekraczało 3 mg/l [15,36]. Mimo niewielkich rozbieżności w otrzymanych rezultatach, wartość AUC oraz stężenie 5-FU w osoczu zdecydowanie to użyteczne parametry do oceny farmakokinetyki leku oraz opracowania strategii indywidualnej modyfikacji dawki.

## PERSPEKTYWY

Zmniejszona aktywność DPD jest przyczyną większości działań niepożądanych po podaniu 5-FU. Obecnie ruty-

nowe monitorowanie leczenia pacjentów poddanych terapii 5-FU jest wykonywane w niewielu ośrodkach na świecie m.in. w Instytucie Onkologicznym w Angers we Francji, gdzie na podstawie BSA jest obliczana pierwsza dawka leku, natomiast każda następna jest wyznaczana w oparciu o analizę farmakokinetyki chemioterapeutyku wykonaną metodą HPLC [18]. Opracowanie procedury obejmującej oznaczenie aktywności DPD, ustalenie dawki 5-FU oraz monitorowanie stężenia chemioterapeutyku podczas leczenia może znacznie zwiększyć skuteczność terapii, przy zachowaniu jej bezpieczeństwa. Ponadto u pacjentów, u których zaobserwowano jego toksyczne działanie, przyczyn zaburzeń aktywności DPD można szukać przez molekularną analizę znanych polimorfizmów w obrębie genu *DPYD* oraz jego promotora. Prowadzenie badań w tym kierunku może się stać podstawą do opracowania nowych standardów terapeutycznych w onkologii, w znaczący sposób wpływając na jakość i długość życia pacjentów.

## PISMIENICTWO

- [1] Alsarra I.A., Alarifi M.N.: Validated liquid chromatographic determination of 5-fluorouracil in human plasma. *J. Chromatogr. B.*, 2004; 804: 435-439
- [2] Amstutz U., Froehlich T.K., Largiadèr C.R.: Dihydropyrimidine dehydrogenase gene as a major predictor of severe 5-fluorouracil toxicity. *Pharmacogenomics*, 2011; 12: 1321-1336
- [3] Ben Fredj R., Gross E., Ben Ahmed S., Hassine H., Saguem S.: The dihydropyrimidine dehydrogenase activity in plasma, clinical and genetic analysis for screening of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency in colorectal cancer patients treated with 5-fluorouracil. *Pathol. Biol.*, 2009; 57: 470-476
- [4] Boisdron-Celle M., Remaud G., Traore S., Poirier A.L., 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; 249: 271-282
- [5] Buczek D., Jassem J.: Indywidualizacja schematów chemioterapii zawierających 5-fluorouracyl u chorych na raka jelita grubego i nowotwory głowy i szyi: teoretyczne i praktyczne aspekty. *Onkol. Prakt. Klin.*, 2016; 8: 238-245
- [6] Caudle K.E., Thorn C.F., Klein T.E., Swen J.J., McLeod H.L., Diasio R.B., Schwab M.: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for dihydropyrimidine dehydrogenase genotype and fluoropyrimidine dosing. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2013; 94: 640-645
- [7] Ciccolini J., Mercier C., Blachon M.F., Favre R., Durand A., Lacarelle B.: A simple and rapid high-performance liquid chromatographic (HPLC) method for 5-fluorouracil (5-FU) assay in plasma and possible detection of patients with impaired dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) activity. *J. Clin. Pharm. Ther.*, 2004; 29: 307-315
- [8] Ciccolini J., Mercier C., Evrard A., Dahan L., Boyer J.C., Duffaud F., Richard K., Blanquicett C., Milano G., Blesius A., Durand A., Seitz J.F., Favre R., Lacarelle B.: A rapid and inexpensive method for anticipating severe toxicity to fluorouracil and fluorouracil-based chemotherapy. *Ther. Drug. Monit.*, 2006; 28: 678-685
- [9] Coe R.A., Earl R.A., Johnson T.C., Lee J.W.: Determination of 5-fluorouracil in human plasma by a simple and sensitive reversed-phase HPLC method. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1996; 14: 1733-1741
- [10] Déporte-Féty R., Picot M., Amiant M., Moreau A., Campion L., Lanø D., Renée N., Milano G.: High-performance liquid chromatographic assay with ultraviolet detection for quantification of dihydrofluorouracil in human lymphocytes: application to measurement of dihydropyrimidine dehydrogenase activity. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.*, 2001; 762: 203-209
- [11] Dołęgowska B., Ostapowicz A., Stańczyk-Dunaj M., Błogowski W.: Badania przesiewowe poprzedzające chemioterapię 5-fluorouracylem. *Post. Pol. Med. Farm.*, 2013; 3: 17-27
- [12] Dołęgowska B., Ostapowicz A., Stańczyk-Dunaj M., Błogowski W.: Spectrophotometric methods as a novel screening approach for analysis of dihydropyrimidine dehydrogenase activity before treatment with 5-fluorouracil chemotherapy. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2012; 63: 411-421
- [13] Escoriaza J., Aldaz A., Calvo E., Giráldez J.: Simple and sensitive determination of 5-fluorouracil in plasma by high-performance liquid chromatography. Application to clinical pharmacokinetic studies. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.*, 1999; 736: 97-102
- [14] Freeman K., Saunders M.P., Uthman O.A., Taylor-Phillips S., Connock M., Court R., Gurung T., Sutcliffe P., Clarke A.: Is monitoring of plasma 5-fluorouracil levels in metastatic/advanced colorectal cancer clinically effective? A systematic review. *BMC Cancer*, 2016; 16: 523
- [15] Gamelin E., Delva R., Jacob J., Merrouche Y., Raoul J.L., Pezet D., Dorval E., Piot G., Morel A., Boisdron-Celle M.: Individual fluorouracil dose adjustment based on pharmacokinetic follow-up compared with conventional dosage: results of a multicenter randomized trial of patients with metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2008; 26: 2099-2105
- [16] Graczyk J.: Effect of antifolates and folates on the antineoplastic action of fluoropyrimidines. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 1992; 46: 143-158
- [17] Gross E., Busse B., Riemenschneider M., Neubauer S., Seck K., Klein H.G., Kiechle M., Lordick F., Meindl A.: Strong association of a common dihydropyrimidine dehydrogenase gene polymorphism with fluoropyrimidine-related toxicity in cancer patients. *PLoS One*, 2008; 3: e4003

- [18] Jędrzychowska A., Dołęgowska B.: Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) - a toxicity marker for 5-fluorouracil? *Ann. Acad. Med. Stetin*, 2013; 59: 48-53
- [19] Kandutsch S., Klinger M., Hacker S., Wrba F., Gruenberger B., Gruenberger T.: Patterns of hepatotoxicity after chemotherapy for colorectal cancer liver metastases. *Eur. J. Surg. Oncol.*, 2008; 34: 1231-1236
- [20] Kirstein M.M., Lange A., Prenzler A., Manns M.P., Kubicka S., Vogel A.: Targeted therapies in metastatic colorectal cancer: a systematic review and assessment of currently available data. *Oncologist*, 2014; 19: 1156-1168
- [21] Lee J.J., Beumer J.H., Chu E.: Therapeutic drug monitoring of 5-fluorouracil. *Cancer. Chemother. Pharmacol.*, 2016; 78: 447-464
- [22] Lennard L.: Therapeutic drug monitoring of antimetabolic cytotoxic drugs. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1999; 47: 131-143
- [23] Liem L.K., Choong L.H., Woo K.T.: Porous graphitic carbon shows promise for the rapid screening partial DPD deficiency in lymphocyte dihydropyrimidine dehydrogenase in Chinese, Indian and Malay in Singapore by using semi-automated HPLC-radioassay. *Clin. Biochem.*, 2002; 35: 181-187
- [24] Milano G., Etienne M.C., Pierrefite V., Barberi-Heyob M., Deporte-Fety R., Renée N.: Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and fluorouracil-related toxicity. *Br. J. Cancer.*, 1999; 79: 627-630
- [25] Nassim M.A., Shirazi F.H., Cripps C.M., Veerasinghan S., Molepo M.J., Obrocea M., Redmond D., Bates S., Fry D., Stewart D.J., Goel R.: An HPLC method for the measurement of 5-fluorouracil in human plasma with a low detection limit and a high extraction yield. *Int. J. Mol. Med.*, 2002; 10: 513-516
- [26] Offer S.M., Fossum C.C., Wegner N.J., Stuflesser A.J., Butterfield G.L., Diasio R.B.: Comparative functional analysis of DPYD variants of potential clinical relevance to dihydropyrimidine dehydrogenase activity. *Cancer Res.*, 2014; 74: 2545-2554
- [27] Ostapowicz A., Dołęgowska B.: Review of methods for determination of dihydropyrimidine dehydrogenase and possible application in screening previous chemotherapy with 5-fluorouracil. *Przegl. Lek.*, 2012; 69: 694-697
- [28] Panczyk M.: Pharmacogenetics research on chemotherapy resistance in colorectal cancer over the last 20 years. *World J. Gastroenterol.*, 2014; 20: 9775-9827
- [29] Panczyk M., Mirowski M.: Farmakogenetyka - znaczenie w chemioterapii raka jelita grubego. *J. Oncol.*, 2008; 58: 62-69
- [30] Pi C., Wei Y., Yang H., Zhou Y., Fu J., Yang S., Ye Y., Zhao L.: Development of a HPLC method to determine 5-fluorouracil in plasma: application in pharmacokinetics and steady-state concentration monitoring. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, 2014; 52: 1093-1101
- [31] Ploylearmsaeng S.A., Fuhr U., Jetter A.: How may anticancer chemotherapy with fluorouracil be individualised? *Clin. Pharmacokinet.*, 2006; 45: 567-592
- [32] Regulska K., Stanis B., Regulski M., Gieremek P.: Molecular fundamentals of drug interactions in the therapy of colorectal cancer. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 209-218
- [33] Saif M.W., Choma A., Salamone S.J., Chu E.: Pharmacokinetically guided dose adjustment of 5-fluorouracil: a rational approach to improving therapeutic outcomes. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2009; 101: 1543-1552
- [34] Sulżyc-Bielicka V., Bińczak-Kuleta A., Pioch W., Kładny J., Gziut K., Bielicki D., Ciechanowicz A.: 5-Fluorouracil toxicity-attributable IVS14 + 1G > A mutation of the dihydropyrimidine dehydrogenase gene in Polish colorectal cancer patients. *Pharmacol. Rep.*, 2008; 60: 238-242
- [35] Szymura-Oleksiak J., Cios A., Gonciarz A.: Terapia monitorowana stężeniem leku we krwi u dzieci. *Pediatr. Dypł.*, 2013; 17: 64-70
- [36] Thyss A., Milano G., Renée N., Vallicioni J., Schneider M., Demard F.: Clinical pharmacokinetic study of 5-FU in continuous 5-day infusions for head and neck cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1986; 16: 64-66
- [37] Urbańska A., Wojnowska D.: Miejscowe zastosowanie 5-fluorouracylu w dermatologii. *Nowa Med.*, 2005; 12: 75-78
- [38] van Kuilenburg A.B., Dobritzsch D., Meinsma R., Haasjes J., Waterham H.R., Nowaczyk M.J., Maropoulos G.D., Hein G., Kalhoff H., Kirk J.M., Baaske H., Aukett A., Duley J.A., Ward K.P., Lindqvist Y. i wsp.: Novel disease-causing mutations in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene interpreted by analysis of the three-dimensional protein structure. *Biochem. J.*, 2002; 364: 157-163
- [39] van Kuilenburg A.B., Klumpen H.J., Westermann A.M., Zoetekouw L., Bakker P.J., Guchelaar H.J., Richel D.J.: Altered dihydropyrimidine dehydrogenase activity associated with mild toxicity in patients treated with 5-fluorouracil containing chemotherapy. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2008; 27: 726-732
- [40] van Kuilenburg A.B., van Lenthe H., Tromp A., Veltman P.C., van Gennip A.H.: Pitfalls in the diagnosis of patients with a partial dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Clin. Chem.*, 2000; 46: 9-17
- [41] van Kuilenburg A.B., van Lenthe H., Zoetekouw L., Kulik W.: HPLC-electrospray tandem mass spectrometry for rapid determination of dihydropyrimidine dehydrogenase activity. *Clin. Chem.*, 2007; 53: 528-530
- [42] van Staveren M.C., Theeuwes-Oonk B., Guchelaar H.J., van Kuilenburg A.B., Maring J.G.: Pharmacokinetics of orally administered uracil in healthy volunteers and in DPD-deficient patients, a possible tool for screening of DPD deficiency. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2011; 68: 1611-1617
- [43] Wawrocka-Pawlak M.: How 5-fluorouracil acts. *Współcz. Onkol.*, 2005; 9: 414-423

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktów interesów.