

Ewa Kalinka¹, Paweł Krawczyk², Maciej Krzakowski³, Tomasz Kubiakowski⁴,
 Barbara Radecka⁵, Paweł Schweiger⁶, Marek Z. Wojtukiewicz⁷, Piotr Wysocki⁸

¹Institut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi

²Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Narodowy Instytut Onkologii — Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie

⁴Warminsko-Mazurskie Centrum Onkologii — Szpital MSWiA w Olsztynie

⁵Uniwersytet Opolski — Centrum Onkologii w Opolu

⁶Instytut Biotechnologii i Medycyny Molekularnej w Gdańsku

⁷Uniwersytet Medyczny w Białymstoku — Białostockie Centrum Onkologii

⁸Uniwersytet Jagielloński — Collegium Medicum w Krakowie

Ocena ryzyka wystąpienia toksyczności chemioterapii zawierającej fluoropirymidyny u chorych z niedoborem dehydrogenazy dihydropirymidynowej

Toxicity risk assessment of fluoropyrimidine-containing chemotherapy in patients with dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency

Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. n. med. Maciej Krzakowski
 Klinika Nowotworów Płuca i Klatki Piersiowej,
 Narodowy Instytut Onkologii
 — Państwowy Instytut Badawczy
 w Warszawie
 ul. Wilhelma Konrada Roentgena 5
 02-781 Warszawa
 e-mail: maciej.krzakowski@pib-nio.pl

STRESZCZENIE

Poważne działania niepożądane obserwowane podczas stosowania chemioterapii z udziałem fluoropirymidyn są w większości przypadków związane z niedoborem aktywności dehydrogenazy dihydropirymidynowej. Obecnie dostępne możliwości diagnostyczne obejmują badanie fenotypowej aktywności wymienionego enzymu lub wykrywanie wariantów genu *DPYD* związanych z niedoborem dehydrogenazy dihydropirymidynowej. Praca ma na celu podsumowanie wiedzy na temat mechanizmów toksyczności fluoropirymidyn związanej z niedoborem dehydrogenazy dihydropirymidynowej oraz omówienie możliwości wykrywania powyższego zaburzenia w praktyce klinicznej.

Słowa kluczowe: dehydrogenaza dihydropirymidynowa, fluoropirymidyny, niepożądane działania

ABSTRACT

Serious adverse effects observed during administration of fluoropyrimidine-containing chemotherapy are in most cases related to the deficiency of dihydropyrimidine dehydrogenase activity. Currently available diagnostics approaches include either phenotyping the enzyme activity or detection of deficiency-related *DPYD* gene variants. The paper aims to summarise knowledge on mechanisms of fluoropyrimidine-related toxicity due to dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and to review possible diagnostic options for detection of the disorder in clinical practice.

Key words: dihydropyrimidine dehydrogenase, fluoropyrimidines, adverse effects

Copyright © 2022 Via Medica

ISSN 2450-1646

e-ISSN 2450-6567

Onkol Prakt Klin Edu 2022; 8, 2: 149-153

Wprowadzenie

Fluoropirymidyny są powszechnie wykorzystywanymi lekami cytotoksycznymi — szczególnie często stosowanymi w ramach chemioterapii u chorych na nowotwory układu pokarmowego, raki narządów regionu głowy

i szyi oraz raka piersi. Najczęściej stosowanymi fluoropirymidynami są — w Polsce i na świecie — fluorouracyl i kapecytabina.

Fluoropirymidyny charakteryzuje skuteczność i toksyczność zależna od dawki. Najczęściej występujące działania niepożądane obejmują uszkodzenie błon śluzowych

(przede wszystkim w obrębie przewodu pokarmowego) z tworzeniem owrzodzeń u części chorych, objawy zespołu ręka–stopa oraz mielotoksyczności (głównie neutropenia i małopłytkowość) i kardiotoxyczności. Poważna toksyczność fluoropirymidyn jest zjawiskiem niedoszacowanym w codziennej praktyce klinicznej — dane z piśmiennictwa wskazują, że zdarzenia niepożądane w przebiegu leczenia fluoropirymidynami występują u od 30% chorych w stopniu 3. do 5% w stopniu 4., a u 0,1–1% chorych kończą się zgonem. Wystąpienie nasilonych działań niepożądanych wcześniej — w ciągu pierwszych kilku dni — po zastosowaniu fluoropirymidyn oraz długotrwałość powikłań może być sygnałem, że toksyczność jest związana z niedoborem dehydrogenazy dihydropirymidynowej (DPD, *dihydropyrimidine dehydrogenase*) [1].

Przyczyną poważnej toksyczności fluoropirymidyn jest w około 60% przypadków niedobór lub brak aktywności DPD, która odpowiada za inaktywację 80–90% zastosowanej dawki fluoropirymidyny. Niedobór DPD powoduje gromadzenie toksycznych metabolitów fluoropirymidyn i zwiększenie ryzyka występowania poważnych działań niepożądanych [2].

Obecne opracowanie stanowi podsumowanie stanu wiedzy na temat toksyczności fluoropirymidyn związanej z niedoborem DPD oraz możliwości wykrywania wspomnianego zaburzenia w praktyce klinicznej.

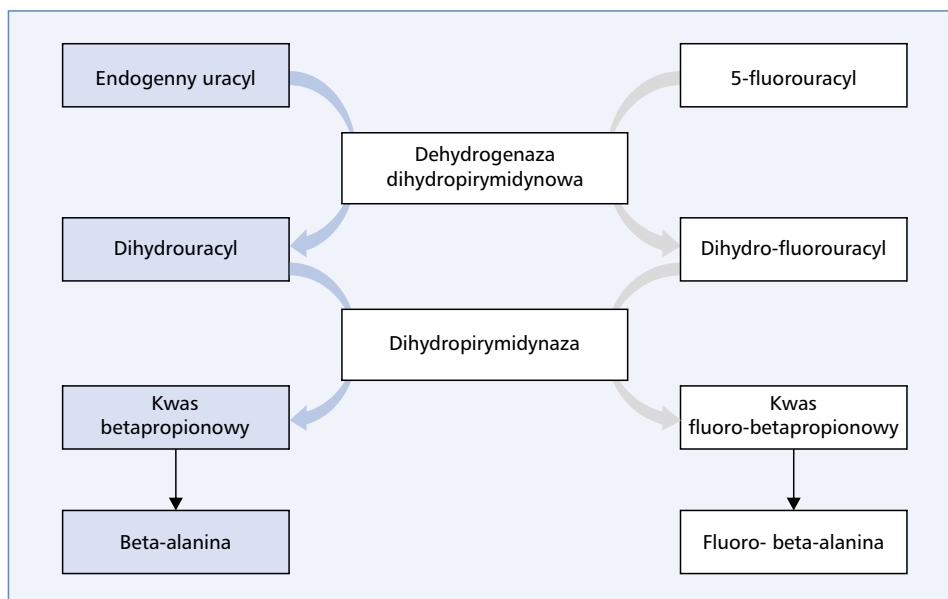
Metabolizm fluoropirymidyn

Okolo 20% fluorouracylu zastosowanego dożylnie ulega wydaleniowi z moczem, a pozostała część leku jest katabolizowana do nieaktywnych metabolitów. Okolo

20% wchłoniętej dawki fluorouracylu oraz kapecytabiny (pro-lek fluorouracylu) trafia do szlaku katabolicznego, w którym kolejne metabolity fluoropirymidyn są wbudowywane do kwasu rybonukleinowego (RNA, *ribonucleic acid*) lub dezoksyrybonukleinowego (DNA, *deoxyribonucleic acid*). Metabolity fluoropirymidyn powodują uszkodzenie kwasów nukleinowych oraz hamują jednocześnie aktywność syntazy tymidylanowej, co prowadzi do śmierci komórki [2]. Pozostałe 80% dawki fluoropirymidyn jest katabolizowane do 5,6 dihydrofluorouracylu (DHFU) pod wpływem DPD. Następnie, DHFU jest katalizowany do fluoro β -ureidopropionianu przez dihydropirymidynazę. Z kolei, fluoro β -ureidopropionian jest katalizowany do fluoro β -alaniny przez ureidopropionazę. Fluorouracyl ma budowę chemiczną podobną do endogennych pirymidyn i ulega katabolizmowi w tych samych szlakach metabolicznych, co pozwala — między innymi — na ocenę aktywności DPD przez pomiar stężenia endogennych pirymidyn (przede wszystkim — uracylu, który ulega gromadzeniu przy niedoborze DPD) [2]. Szlaki metaboliczne endogennych i egzogennych pirymidyn i rolę DPD przedstawiono w uproszczony sposób na rycinie 1 (rycina obrazuje, że kumulacja endogennego uracylu jest niemal tożsama z zaburzeniami katabolizmu fluorouracylu przez DPD).

Wskazania dotyczące diagnostyki niedoboru dehydrogenazy dihydropirymidynowej

Całkowity brak aktywności DPD występuje rzadko (0,01–0,05% populacji kaukaskiej), ale wiąże się ze zwiększonym ryzykiem groźnych dla życia działań nie-



Rycina 1. Metabolizm pirymidyn endo- i egzogennych wraz z rolą dehydrogenazy dihydropirymidynowej

Tabela 1. Różne warianty genu *DPYD* odpowiedzialne za obniżenie aktywności dehydrogenazy dihydropirymidynowej z częstością występowania u osób rasy kaukaskiej

| Wariant polimorficzny | Znaczenie | Częstość występowania (dotyczy heterozygot) |
|---------------------------------------|--|---|
| c.1905+1G>A (<i>DPYD</i> *2A) | Substytucja końca 5' intronu 14, odpowiadająca za utratę eksonu 14 w mRNA, skrócenie sekwencji aminokwasowej białka i szybką jego degradację | 1% (0,65%) |
| c.1679T>G (<i>DPYD</i> *13, p.I560S) | Substytucja w eksonie 13. | 0,07-0,1% (0,03%) |
| c.2846A>T (p.D949) | Substytucja w eksonie 22. | 1,1% (0,32%) |
| c.1236G>A/HapB3 | Substytucja końca 5' intronu 11, odpowiadająca za utratę eksonu 11 w mRNA | 2,6-6,3% (1,3%) |

mRNA (*messenger ribonucleic acid*) — przekaźnikowy kwas rybonukleinowy

pożądanym fluoropirymidyn. W związku z powyższym istotne jest zidentyfikowanie chorych o cechach fenotypowych lub genotypowych braku aktywności DPD w celu zaniechania stosowania fluoropirymidyn. Natomiast niedobór DPD wymaga oceny ryzyka powikłań zależnych — między innymi — od wariantu genu *DPYD* w obu jego allelach i modyfikowania założeń leczenia [3]. Najczęściej występujące warianty genu *DPYD* odpowiedzialne za niedobór DPD przedstawiono w tabeli 1. Prawie całkowita lub całkowita utrata aktywności DPD występuje u osób homozygotycznych oraz złożonych heterozygotycznych (np. w przypadku kombinacji niektórych wariantów z przynajmniej jednym allelem c.1905+1G>A lub c.1679T>G) [1, 2].

W opublikowanym w 2015 roku przeglądzie systematycznym i metaanalizie 8 badań oceniających związek wariantów genetycznych genu *DPYD* z ciężką toksycznością u 7365 chorych leczonych fluoropirymidynami stwierdzono istotny związek między zwiększoną częstością poważnych działań niepożądanych i genotypem c.1679T>G ($p < 0,0001$) i c.1236G>A/HapB3 ($p < 0,0001$) [4].

W prospektywnym badaniu kohortowym prowadzonym u 2038 chorych oceniano związek genotypu c.1905+1G>A z toksycznością fluoropirymidyn. Stwierdzono zmianę w jednym allelu genu *DPYD* u 22 chorych (osoby heterozygotyczne), a toksyczność co najmniej 3. stopnia — u 5 spośród 18 (28%) leczonych [5].

Istotne znaczenie mają wyniki prospektywnej analizy kohorty, w której oceniano genotyp *DPYD* przed leczeniem celem adaptacji dawki do ryzyka działań niepożądanych. U 85 z 1103 ocenianych chorych stwierdzono obecność substytucji w jednym allelu genu *DPYD*. Poważne zdarzenia niepożądane związane z fluoropirymidyną wystąpiły odpowiednio u 33 spośród 85 (39%) nosicieli rzadkiego wariantu *DPYD* wobec 231 spośród 1018 (23%) chorych bez wymienionej zmiany genetycznej ($p = 0,0013$). Dawkowanie oparte na ocenie genotypu doprowadziło do zmniejszenia ryzyka poważnych toksyczności u nosicieli allele c.1905+1G>A do 1,31 z 2,87 w kontroli historycznej [6].

W celu poprawienia bezpieczeństwa chemioterapii francuska Narodowa Agencja Bezpieczeństwa Leków i Produktów Zdrowotnych (ANSM, *Agence Nationale de Securite du Medicament et des Produits de Sante*) zarekomendowała w 2018 roku wykonywanie genotypowania *DPYD* u wszystkich chorych przed leczeniem fluoropirymidynami. Natomiast w grudniu 2018 roku francuski Narodowy Instytut Nowotworów (INCa, *Institut National Du Cancer*) przedstawił zalecenie rutynowego oznaczania uracylu we krwi obwodowej w celu oceny pośredniej aktywności DPD względem uracylu endogenego. Określono, że stężenie 150 ng/ml i większe jest związane z dużym ryzykiem wystąpienia groźnych dla życia działań niepożądanych fluoropirymidyn i w tej grupie chorych zalecono odstępowanie od stosowania fluorouracylu lub kapecytabiny. Natomiast stężenie uracylu między 16 i 150 ng/ml zostało uznane za ekwiwalent częściowego niedoboru DPD, przy którym zalecono odpowiednią redukcję dawki fluoropirymidyn [1]. Do oceny ryzyka wystąpienia toksyczności może być także przydatna ocena proporcji dihydrouacylu do endogenego uracylu (wskaźnik UH2/U). Endogeny uracyl jest metabolizowany w wątrobie do dihydrouacylu przez DPD. Wysoki wskaźnik UH2/U jest związany z wyższym ryzykiem występowania działań niepożądanych fluoropirymidyn, chociaż wartość wskaźnika nie koreluje z klirensiem osoczkowym fluorouracylu [2].

W 2020 roku Europejska Agencja Leków (EMA, *European Medicines Agency*) — po analizie dostępnych informacji naukowych — opublikowała rekomendację dotyczącą testowania wszystkich chorych, u których planowana jest chemioterapia fluoropirymidynami w kierunku wariantów genetycznych genu *DPYD* warunkujących niedobór DPD [3].

Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych i Biobójczych (URPLiB) — w następstwie rekomendacji EMA — opublikował komunikat skierowany do „fachowych pracowników służby zdrowia”, które potwierdza zalecenie EMA w zakresie potrzeby testowania genotypowego lub fenotypowego niedoboru DPD przed rozpoczęciem

systemowego leczenia fluoropirymidynami. Komunikat URPLiB zaleca rozważenie zmniejszenia dawki początkowej fluoropirymidyn i wymienia dodatkową metodę służącą poprawie wyników klinicznych, którym jest monitorowanie stężeń fluorouracylu w krwi w celu modyfikowania dawkowania i utrzymania dawki w indeksie terapeutycznym leku. Zaleca się utrzymanie dawki fluorouracylu zakresie pola pod krzywą (AUC, *area under the curve*) między 20 i 30 mg × godzina/l. W przypadku zastosowania zmniejszonej dawki początkowej w pierwszym cyklu bez monitorowania stężeń, można podjąć próbę eskalowania dawek do wartości należnych przy braku objawów toksyczności, ale pod warunkiem utrzymania zwiększonego nadzoru nad chorymi [7].

Brytyjska Narodowa Służba Zdrowia (NHS, *National Health Service*) opublikowała rekomendację wskazującą na konieczność genotypowania wariantów *DPYD* w celu identyfikacji chorych z całkowitym niedoborem DPD, u których leczenie fluoropirymidynami nie powinno być stosowane w obawie o powikłania zagrażające życiu. Brytyjski NHS zwraca również uwagę na konieczność rozważenia redukcji dawek fluoropirymidyn i zwiększonego nadzoru nad toksycznością u chorych z częściowym niedoborem DPD [8].

Należy pamiętać, że niedostateczna aktywność DPD nie jest jedyną przyczyną zwiększonej toksyczności fluoropirymidyn i wykluczenie niedoboru aktywności DPD nie zwalnia z bardzo starannego monitorowania działań niepożądanych leczenia, wspomniane niedobory odpowiadają bowiem jedynie za około 20% ciężkich działań niepożądanych fluoropirymidyn.

Metody diagnostyki niedoboru dehydrogenazy dihydropirymidynowej

Zasadnicze metody diagnostyczne w ocenie DPD obejmują diagnostykę fenotypową aktywności badanego enzymu oraz genotypowanie, w którym oceniane są 4 najczęstsze warianty genu *DPYD* związane z niedoborem DPD i toksycznością fluoropirymidyn.

Ocena stężenia endogennego uracylu i dihydrouracylu w osoczu krwi jest przeprowadzana najczęściej za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC, *high-performance liquid chromatography*) lub metodą spektrometrii masowej. Obie metody nie są powszechnie dostępne w polskich laboratoriach. Należy także pamiętać, że uracyl i jego metabolity nie są stabilne, a na wynik badania może mieć wpływ sposób pobrania i czas transportu materiału oraz inne problemy przedlaboratoryjne [2]. Badania genu *DPYD* — pod względem problemów przedlaboratoryjnych — obarczone są mniejszym błędem.

Najczęstsze warianty genu *DPYD* wymieniono w tabeli 1. Obecnie nie rekomenduje się badania tylko jed-

nego — najczęstszego — wariantu c.1905+1G>A (*DPYD*2A*). Stwierdzono, że badanie jedynie wymienionego wariantu nie wystarcza do oceny ryzyka wystąpienia niedoboru DPD. Nie ma również oczywistych wskazań do badania bardzo rzadkich wariantów genu *DPYD* (*DPYD*5* (T>C), *DPYD*6* (C>T), *DPYD*9A* (A>G)). Chorzy wymagają oznaczenia tylko raz przed planowanym stosowaniem fluoropirymidyn (zalecenia NHS) [8].

Badanie wariantów genu *DPYD* należy przeprowadzić w materiale genetycznym wyizolowanym z leukocytów krwi obwodowej za pomocą zestawów do izolacji posiadających certyfikat do diagnostyki *in vitro* (IVD) [9–11].

W amerykańskich zaleceniach *National Institute of Health* (NIH) zawarto stwierdzenie, że do badania wariantów genu *DPYD* można zastosować różne metody od genotypowania pojedynczych zmian do sekwencjonowania całego genu. Do badania czterech najważniejszych wariantów genu *DPYD* najczęściej używa się techniki PCR (*polymerase chain reaction*), która zachodzi w czasie rzeczywistym (RT, *real-time*) w odpowiednim termocyklerze. Do diagnostyki *in vitro* dopuszczone są różne testy. Najprostsze opierają się na wykorzystaniu metody dyskryminacji allelicznej oraz sond molekularnych typu *TaqMan* znakowanych fluorochromami. Komercyjnie dostępne są również zestawy wykorzystujące technologię izotermicznej amplifikacji (LAMP, *loop-mediated isothermal amplification*). Podczas badania metodą LAMP etap denaturacji termicznej został wyeliminowany, a cały proces zachodzi w stałej temperaturze 64°C i protokół amplifikacji kwasów nukleinowych trwa jedynie 30 minut. Metoda LAMP wykorzystuje analizę krzywych topnienia produktu amplifikacji dla analizowanych sekwencji genów (HRM, *high resolution melt*), która jest nieco droższa od zwykłego badania RT-PCR. Jednak obie metody charakteryzuje prostota wykonania i brak konieczności posiadania drogiej aparatury [9–11].

Metoda sekwencjonowania pozwala badać dłuższe fragmenty DNA, co umożliwia wykrycie najczęstszych oraz rzadkich wariantów genu *DPYD*. Sekwencjonowanie bezpośrednie metodą Sangera umożliwia badanie stosunkowo krótkich odcinków DNA — metoda jest najtańsza, ale laboratorium musi zostać wyposażone w odpowiedni sekwenator kapilarny. Najbardziej zaawansowaną, najdroższą i najbardziej skomplikowaną technologią jest sekwencjonowanie nowej generacji (NGS, *next-generation sequencing*). Metoda NGS umożliwia badanie całych genów (zarówno sekwencji kodujących — eksonów, jak i niekodujących — intronów) lub tylko miejsc, w których występują mutacje. Stosowanie NGS w celu badania wariantów genu *DPYD* nie jest ekonomicznie uzasadnione, jeżeli nie stanowi części jednoczesnej oceny wielogenowej. Zalecenia NIH sugerują, że NGS może służyć do genotypowania *DPYD*, jeżeli wymieniony gen znajdzie się w panelu wykorzystywanym w diagnostyce — przykładowo — u chorych

na zaawansowanego raka jelita grubego i odbytnicy, u których pochodne fluoropirymidyny mają szerokie zastosowanie i kwalifikacja do leczenia ukierunkowanego molekularnie obejmuje ocenę genów *KRAS* i *NRAS* oraz *BRAF* lub niestabilności mikrosatelitarnej [9–11].

Finansowanie genotypowania DPYD

Obecnie — według wiedzy autorów opracowania — możliwe jest finansowanie badań molekularnych różnych wariantów genu *DPYD* związanych z wysokim ryzykiem powikłań po fluoropirymidynach w ramach świadczeń odrębnie kontraktowanych lub badań genetycznych w chorobach nowotworowych, co wynika z Zarządzenia Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia (NFZ) nr 1/DSOZ/2022 (z późniejszymi modyfikacjami) w sprawie określania warunków zawierania i realizacji umów w rodzaju leczenie szpitalne oraz leczenie szpitalne — świadczenia wysokospecjalistyczne (załącznik nr 7). Jeżeli badanie genu *DPYD* wykonujemy metodą RT-PCR lub sekwencjonowaniem metodą Sangera (do 6 amplikonów), to możliwe jest rozliczenie wymienionej procedury jako prostego badania genetycznego. W przypadku sekwencjonowania dłuższych fragmentów genów techniką Sangera lub NGS (od 6 do 40 amplikonów) procedura jest rozliczana jako złożone badanie genetyczne. Sekwencjonowanie wielu genów techniką NGS jest rozliczane jako najdroższe, zaawansowane badanie genetyczne. Obecna wycena badania pozwala na pokrycie kosztów w części podmiotów komercyjnych [12]. Bieżące zasady finansowania w poszczególnych podmiotach należy potwierdzić samodzielnie.

Podsumowanie

Niepożądane działania fluoropirymidyn mają wiele przyczyn. Niedobór DPD jest najlepiej poznaną przyczyną i ocena aktywności wymienionego enzymu może pomóc w określeniu ryzyka wystąpienia toksyczności i ograniczenia powikłań, które mogą być groźne dla chorych.

Ocena występowania całkowitego lub częściowego niedoboru DPD jest zasadna u wszystkich chorych przed rozpoczęciem leczenia fluoropirymidynami.

Metodą diagnostyczną zalecaną przez EMA i URPLiB jest genotypowanie 4 wariantów genu *DPYD* związanych z wysokim ryzykiem groźnej dla życia toksyczności fluoropirymidyn.

W przypadku dostępności oznaczania stężenia uracylu w krwi, uzyskane wyniki mogą także stanowić podstawę do decyzji klinicznych o stosowaniu i dawkowaniu fluoropirymidyn.

U chorych leczonych radykalnie decyzja o redukcji dawek w przypadku podejrzenia częściowego niedoboru DPD powinna uwzględniać stopień ryzyka powikłań

fluoropirymidyn w celu uniknięcia nadmiernego obniżenia intensywności dawki, co może mieć wpływ na skuteczność leczenia i długość życia.

Konflikt interesów

P.S.: Udziały w podmiocie oferującym komercyjne usługi i produkty w zakresie medycznej diagnostyki laboratoryjnej (Genloxa Sp z o.o.).

T.K.: Wykłady dla firm BMS, MSD, Merck, niezwiązane z publikowanym artykułem.

B.R.: Honoraria od firm AstraZeneca, AMGEN, BMS, Gilead, Lilly, Merck, MSD, Novartis, Pfizer, Pierre-Fabre, Roche, Servier, niezwiązane z publikowanym artykułem.

Pozostali autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

Piśmiennictwo

1. Screening for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency to prevent fluoropyrimidines (5-fluorouracil) severe adverse reactions, Recommendations, INCa, HAS, December 2018. <https://www.has-sante.fr>.
2. Hodroj K, Barthelemy D, Lega JC, et al. Issues and limitations of available biomarkers for fluoropyrimidine-based chemotherapy toxicity, a narrative review of the literature. *ESMO Open*. 2021; 6(3): 100125, doi: 10.1016/j.esmoop.2021.100125, indexed in Pubmed: 33895696.
3. EMA recommendations on DPD testing prior to treatment with fluorouracil, capecitabine, tegafur and flucytosine. https://www.ema.europa.eu/en/documents/press-release/ema-recommendations-dpd-testing-prior-treatment-fluorouracil-capecitabine-tegafur-flucytosine_en.pdf.
4. Meulendijks D, Henricks LM, Sonke GS, et al. Clinical relevance of DPYD variants c.1679T>G, c.1236G>A/HapB3, and c.1601G>A as predictors of severe fluoropyrimidine-associated toxicity: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2015; 16(16): 1639–1650, doi: 10.1016/S1470-2045(15)00286-7, indexed in Pubmed: 26603945.
5. Deenen MJ, Meulendijks D, Cats A, et al. Upfront Genotyping of DPYD*2A to Individualize Fluoropyrimidine Therapy: A Safety and Cost Analysis. *J Clin Oncol*. 2016; 34(3): 227–234, doi: 10.1200/JCO.2015.63.1325, indexed in Pubmed: 26573078.
6. Henricks LM, Lunenburg CA, de Man FM, et al. DPYD genotype-guided dose individualisation of fluoropyrimidine therapy in patients with cancer: a prospective safety analysis. *Lancet Oncol*. 2018; 19(11): 1459–1467, doi: 10.1016/S1470-2045(18)30686-7, indexed in Pubmed: 30348537.
7. <http://www.urpl.gov.pl/sites/default/files/Komunikat5.05.20/fluorouracylipochodne.pdf>.
8. <https://www.england.nhs.uk/publication/clinical-commissioning-urgent-policy-statement-pharmacogenomic-testing-for-dpyd-polymorphisms-with-fluoropyrimidine-therapies/>.
9. Innocenti F, Mills SC, Sanoff H, et al. All You Need to Know About Genetic Testing for Patients Treated With Fluorouracil and Capecitabine: A Practitioner-Friendly Guide. *JCO Oncol Pract*. 2020; 16(12): 793–798, doi: 10.1200/OP.20.00553, indexed in Pubmed: 33197222.
10. Wörmann B, Bokemeyer C, Burmeister T, et al. Dihydropyrimidine Dehydrogenase Testing prior to Treatment with 5-Fluorouracil, Capecitabine, and Tegafur: A Consensus Paper. *Oncol Res Treat*. 2020; 43(11): 628–636, doi: 10.1159/000510258, indexed in Pubmed: 33099551.
11. Amstutz U, Henricks LM, Offer SM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther*. 2018; 103(2): 210–216, doi: 10.1002/cpt.911, indexed in Pubmed: 29152729.
12. Zarządzenie Prezesa NFZ nr 1/2022/DSOZ z dnia 03. 01. 2022. w sprawie określenia warunków zawierania i realizacji umów w rodzaju leczenie szpitalne oraz leczenie szpitalne – świadczenia wysokospecjalistyczne. <https://www.nfz.gov.pl/zarządzenia-prezesa/zarządzenia-prezesa-nfz/zarządzenie-nr-12022dsoz,7474.html>.