
**Genotipagem do gene *DPYD* no tratamento com Fluoropirimidinas em oncologia:
impacto económico da implementação laboratorial num Centro Hospitalar Português**

Marisa Alexandra Silva Freitas

Plano de Dissertação

Mestrado em Gestão e Economia de Serviços de Saúde

Orientado por:

Prof. Dra. Susana Oliveira

Prof. Dr. Ricardo Ribeiro

2023

Agradecimentos

A realização desta Dissertação de Mestrado foi possível devido à ajuda de várias pessoas de elevado nível profissional e pessoal, às quais presto o meu mais louvado agradecimento.

À Professora Doutora Susana Oliveira pela orientação e todos os esclarecimentos prestados, pela motivação e compreensão ao longo do desenvolvimento da presente dissertação e acompanhamento no decorrer da mesma.

Ao Professor Doutor Ricardo Ribeiro pela orientação, empenho, entusiasmo e sentido crítico com que abraçou este projeto, por toda a disponibilidade em auxiliar-me nos procedimentos necessários, no Centro Hospitalar Universitário de Santo António, de modo a conseguir realizar o trabalho na instituição.

À equipa de Farmácia e Oncologia Médica por toda a simpatia e ajuda na recolha de dados e informações.

Resumo

O cancro é uma das principais causas de morte em todo o mundo, representando elevada morbilidade sobretudo associada aos efeitos colaterais do tratamento. Em alguns tipos de cancro, nomeadamente gástrico, da mama e colorretal, as fluoropirimidinas (FPs) são uma classe de medicamentos de primeira linha para o seu tratamento, apesar de associadas a frequentes e graves toxicidades.

O teste genético *DPYD* tem como objetivo identificar variantes genéticas que estão associadas a uma maior suscetibilidade de efeitos adversos graves, permitindo à posteriori um ajuste de dose terapêutica, tendo a medicina de precisão, o potencial de revolucionar, a forma como tratamos doenças, tendo em conta a variabilidade genética dos indivíduos.

Neste estudo, pretendeu-se analisar o impacto clínico e económico, de acordo com a patologia, grau de severidade da toxicidade e respetivos Grupos de Diagnóstico Homogéneo (GDH) nos doentes internados, numa coorte de doentes oncológicos submetidos a genotipagem do gene *DPYD* e como comparação retrospectivamente num grupo de doentes sem teste. Usaram-se como endpoints a gravidade, necessidade de internamento e morte associados a toxicidade por FPs. Os participantes foram tratados com FPs, no Serviço de Oncologia Médica do Centro Hospitalar Universitário de Santo António, entre fevereiro 2020 e março 2023. Foram incluídos 310 doentes, 139 da coorte de teste genético (CTG) e 171 da coorte histórica (CH). Foram determinados os custos associados aos internamentos por toxicidade nas duas coortes.

Embora a genotipagem acrescente custos adicionais, ela também reduz os custos relacionados com internamentos por toxicidade grave e parece evitar mortes decorrentes de toxicidades. Entre as despesas associadas a toxicidade, verificou-se um custo médio por doente em cada coorte 79.2 € mais baixo no grupo com teste genético comparado com a CH. Mesmo após acrescentar o valor do teste genético, manteve-se um custo cerca de um euro mais baixo no grupo CTG.

Os resultados sugerem que a implementação da genotipagem *DPYD* pode melhorar tanto os resultados clínicos quanto a eficiência na utilização dos recursos na saúde. Sendo este estudo realizado na perspetiva do SNS, conclui-se que a genotipagem *DPYD*, para além de parecer evitar mortes decorrentes de toxicidades, pode também ser uma estratégia eficaz para melhorar os resultados clínicos e a eficiência na utilização dos recursos na saúde, permitindo um uso mais personalizado dos medicamentos.

Abstract

Cancer is one of the leading causes of death worldwide, representing high morbidity, especially associated with the side effects of treatment. In some types of cancer, namely gastric, breast, and colorectal cancer, fluoropyrimidines (FPs) are a first-line class of drugs for their treatment, despite being associated with frequent and severe toxicities. The DPYD genetic test aims to identify genetic variants that are associated with a higher susceptibility to serious adverse effects, allowing for subsequent adjustment of therapeutic dose. Precision medicine has the potential to revolutionize the way we treat diseases, taking into account the genetic variability of individuals. This study aimed to analyze the clinical and economic impact, according to the pathology, severity of toxicity, and respective Homogeneous Diagnosis Groups (HDGs) in hospitalized patients in a cohort of cancer patients undergoing DPYD gene genotyping, compared retrospectively with a group of patients without the test. Endpoints used were severity, need for hospitalization, and toxicity-related deaths from FPs. Participants were treated with FPs at the Medical Oncology Service of the Centro Hospitalar Universitário de Santo António, between February 2020 and March 2023. A total of 310 patients were included, 139 from the genetic testing cohort (GTC) and 171 from the historical cohort (HC). The costs associated with toxicity-related hospitalizations were determined in both cohorts. Although genotyping adds additional costs, it also reduces costs related to severe toxicity-related hospitalizations and seems to prevent deaths from toxicities. Among the expenses associated with toxicity, there was an average cost per patient in each cohort that was €79.2 lower in the genetic testing group compared to the HC. Even after adding the cost of genetic testing, the cost remained about one euro lower in the GTC group. The results suggest that the implementation of DPYD genotyping can improve both clinical outcomes and resource efficiency in healthcare. This study was conducted from the perspective of the National Health System (NHS), and it is concluded that DPYD genotyping, in addition to appearing to prevent deaths from toxicities, can also be an effective strategy to improve clinical outcomes and resource efficiency in healthcare, allowing for a more personalized use of medications.

Índice

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	ii
Abstract	iii
Índice	iv
Índice de ilustrações	v
Índice de tabelas.....	v
I Lista de abreviaturas	vii
1. Introdução	1
2. Revisão da Literatura.....	2
2.1 Tratamento de doenças oncológicas com fluoropirimidinas	2
2.1.1 Metabolismo das fluoropirimidinas.....	4
2.2 Repercussão económica da genotipagem <i>DPYD</i> na terapêutica com fluoropirimidinas	6
3. Metodologia.....	8
3.1 População	8
3.2 Objetivos do estudo.....	10
3.3 Procedimentos	10
3.4 Análise estatística.....	12
4. Resultados.....	13
4.1 Caracterização da amostra e resultados clínicos	13
4.2 Comparação de custos.....	19
6. Discussão	23
8. Bibliografia.....	27

Índice de ilustrações

Figura 1 - Metabolização das fluoropirimidinas.....	5
Figura 2 - Esquema ilustrativo da <i>workflow</i> do estudo.....	9
Figura 3 - Custo médio por doente da CH e CTG	22

Índice de tabelas

Tabela 1 - Recomendações iniciais da dose para portadores heterozigóticos do alelo variante do gene <i>DPYD</i>	4
Tabela 2 - Exemplo de alertas estabelecidos pela FDA que devem ser tidos em conta durante os tratamentos com capecitabina com base no biomarcador genético <i>DPYD</i>	6
Tabela 3 - Descrição e análise comparativa das características demográficas e clínicas das coortes em estudo	13
Tabela 4 - Toxicidades associadas a fluoropirimidinas na população estudada.....	14
Tabela 5 - Análise empírica com regressão logística binomial, das variáveis associadas aos endpoints de toxicidade induzida por fluoropirimidinas	16
Tabela 6 - Análise de regressão logística univariada da análise genética <i>DPYD</i> e associação dos polimorfismos genéticos com os endpoints de toxicidade induzida por fluoropirimidinas	17
Tabela 7 - Análise de regressão logística multivariada incluindo o perfil farmacogenético <i>DPYD</i> e covariáveis com valor preditivo para endpoints de toxicidade	18
Tabela 8 - Frequência de variantes e distribuição genotípica no gene <i>DPYD</i>	19
Tabela 9 - Valores totais dos custos do internamento decorrentes de toxicidades de acordo com a patologia, nível de severidade e respetivo GDH (Tabela Nacional Grupos de Diagnóstico Homogéneo).....	20
Tabela 10 - Valores totais dos custos do internamento decorrentes de toxicidades de acordo com a patologia, grau de severidade e respetivo GDH (Tabela Nacional Grupos de Diagnóstico Homogéneo) na Coorte teste genético	21
Tabela 11 - Mediana e somatórios dos custos (em euros) associados a internamentos por toxicidade	22

I Lista de abreviaturas

DNA - ácido desoxirribonucleico

RNA - ácido ribonucleico

DPD - dihidropirimidina desidrogenase

ECOG PS - *Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status*

FPs - Fluoropirimidinas

GDH - Tabela Nacional Grupos de Diagnóstico Homogêneo

5-FU - 5 - Fluorouracilo

FdUMP - fluorodesoxiuridina monofosfato

MCDT - Meios Complementares de Diagnóstico e Terapêutica

QALY - *Quality Adjusted Life Years*

SNS - Serviço Nacional de Saúde

SPSS - *Statistical Package for the Social Science*

CPIC - Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium

CTCAE 5.0 - Critérios de terminologia de efeitos adversos

1. Introdução

A farmacogenética e farmacogenómica estudam um conjunto de respostas para as diferenças interindividuais na resposta aos fármacos. A farmacogenética pretende explicar a influência da variabilidade genética na resposta aos medicamentos e tenta conhecer como um determinado polimorfismo genético pode afetar o metabolismo e a ação dos medicamentos em cada indivíduo, permitindo otimizar a resposta terapêutica e aumentar a eficácia do medicamento administrado, reduzir os seus efeitos adversos e melhorar o cumprimento terapêutico. A farmacogenómica é o estudo das variações ao nível do genoma e da forma como elas controlam os efeitos terapêuticos no indivíduo. É fundamental estabelecer metas e novos desafios que permitam incluir esta abordagem terapêutica inovadora como parte imprescindível da farmacoterapia quer em ambiente hospitalar, quer em ambulatório. Cada vez com maior relevo, os conhecimentos científicos que permitem a personalização da terapêutica, como a farmacogenética e a farmacodinâmica e farmacocinética, devem ser aplicados na prática clínica em prol do aumento da qualidade de vida do doente, por intermédio de uma maior eficácia e segurança dos medicamentos.

As fluoropirimidinas (FPs) são quimioterápicos usados por rotina no tratamento de doentes oncológicos. As fluoropirimidinas (5-fluorouracil, capecitabina e tegafur) são usadas no tratamento adjuvante e paliativo do cancro colorretal, gástrico, mama, neoplasias hepato-biliares. O uso da medicina de precisão, aumenta e melhora a segurança no uso de FPs, pode ter impacto no tratamento de milhões de pacientes a nível mundial com cancro, tais como colorretal, gástrico, pancreático e mama (Paulsen et al., 2023). O uso mais frequente da medicina de precisão em oncologia tem como objetivo aumentar o efeito anti-tumoral e a sobrevida geral. O teste genético DPD tem o potencial de minimizar o risco de toxicidade associado ao uso alargado de antineoplásicos (Paulsen et al., 2023). A di-hidropirimidina desidrogenase é a enzima que inativa 80-90% do 5-FU (DPD, codificado pelo gene *DPYD*) em 5,6-dihidro-fluorouracil, impedindo a sua acumulação e subsequente toxicidade. A deficiência populacional de DPD estima-se em 3 – 8% e tem sido associada a toxicidade grave (diarreia, neutropenia, mucosite, entre outras) (Brooks et al., 2022; Guy's & St Thomas' NHS Foundation Trust, 2020).

Atualmente, existem recomendações de Sociedades Internacionais (Amstutz et al., 2018; Lunenburg et al., 2020), incluindo a Agência Europeia de Medicamentos (EMA), para que os doentes sejam testados genotipicamente pré-tratamento para prever a atividade da DPD (Guy's & St Thomas' NHS Foundation Trust, 2020; Paulsen et al., 2023). Numa população com cancro, a incidência de toxicidade grau ≥ 3 associada ao uso de FPs, é cerca de 20-30%. Em raros casos, o uso de FPs é letal (Paulsen et al., 2023). Todos os pacientes elegíveis para tratamento com FPs

devem ser submetidos a genotipagem para quatro variantes no gene *DPYD* associadas a toxicidade grave: *DPYD**2A (IVS14+1G>A, c. 1905+ 1G>A, ou rs3918290); c.2846A>T(p.D949V, rs67376798); *DYPD**13 (c.1679T>G, p.I560S, rs55886062); c.1236G>A (HapB3, rs56038477) (Paulsen et al., 2023).

O procedimento de genotipagem por RT-PCR foi implementado no CHUSA em novembro de 2021, no entanto, sendo significativo esclarecer o impacto clínico e económico, no contexto de um Centro Hospitalar português.

As avaliações económicas constituem um dos fatores mais importantes na implementação de qualquer serviço na prática clínica. Para que a implementação do teste farmacogenético seja bem-sucedida, não basta demonstrar o seu benefício clínico. É fundamental que a relação custo-efetividade seja favorável. As avaliações económicas são, no contexto da farmacogenética, avaliações fármaco-económicas em que se comparam os resultados dos regimes terapêuticos baseados em informação genética com tratamentos que seguem a metodologia da medicina clássica. Se se demonstrar que os resultados e a abordagem farmacogenética é economicamente viável ou mais económica do que a abordagem da medicina clássica, fica estabelecido um argumento válido para a sua implementação. (Marsh & McLeod, 2004).

O teste farmacogenético da *DPYD* está recomendado em guidelines de atuação clínica de várias Sociedades Médicas e Científicas (Garcia-Alfonso et al., 2022). A robustez da evidência científica acumulada ao longo dos últimos anos contribuiu para o estabelecimento da sua implementação na prática clínica. O CHUSA nomeadamente o Serviço de Química Clínica em colaboração com o Serviço de Oncologia Médica, implementaram, de acordo com o estado-da-arte, a testagem *DPYD* como elemento preditivo da avaliação do risco de toxicidade grave em doentes oncológicos candidatos a quimioterapia com FPs.

Por representar um significativo custo adicional ao procedimento clínico standard, entendeu-se ser necessário efetuar uma validação da sua implementação, através da realização de uma avaliação económica. Sem uma análise formal das opções disponíveis, podemos desperdiçar recursos (monetários e não-monetários) importantes para tratar mais e melhor os doentes.

2. Revisão da Literatura

2.1 Tratamento de doenças oncológicas com fluoropirimidinas

As fluoropirimidinas são agentes quimioterápicos amplamente utilizados para o tratamento de neoplasias malignas. Desde a sua introdução há mais de 50 anos, o 5-fluorouracil (5-FU), um

antimetabolito que interfere na duplicação e transcrição do DNA (fase G1/S), permanece como quimioterápico major no tratamento oncológico, assumindo papel preponderante no esquema terapêutico de neoplasias malignas do trato gastrointestinal, em monoterapia ou em combinação (Henricks et al., 2017; Marsh & McLeod, 2004).

O 5-Fluorouracil (5-FU) possui dois mecanismos principais de ação. Age como um antimetabolito através da forma ativa FdUMP que inibe a função do gene timidilato sintetase (TYMS) na produção de TS, uma enzima chave na duplicação e transcrição do DNA. Outro mecanismo utilizado seria a promoção da morte celular e apoptose, através da incorporação de produtos ativos FUTP ou FdUTP no ARN e ADN, respetivamente (Henricks et al., 2017).

Embora a maioria dos pacientes possa ser tratada com segurança com capecitabina e 5-FU, uma proporção substancial apresenta toxicidade grave relacionada com FP (Wormann et al., 2020). Em estudos de fase III em cancro colorretal metastático, 30% a 40% dos pacientes tratados em monoterapia com 5-FU ou capecitabina apresentaram toxicidade relacionada ao tratamento grave (grau 3), consistindo em diarreia, mucosite, supressão da medula óssea e síndrome mão-pé. O tratamento da toxicidade grave é geralmente associado à interrupção ou mesmo descontinuação da terapia anticancerígena potencialmente eficaz, e muitas vezes requer hospitalização, o que também aumenta os custos de saúde. Além disso a grave toxicidade relacionada às FPs leva à mortalidade em 0,5%– 1% dos pacientes, representando um problema clínico substancial (Henricks et al., 2017).

Uma enzima DPD funcionalmente reduzida ou anulada pode ser causada por polimorfismos genéticos no *DPYD*, o gene que codifica DPD, sabendo-se que portadores heterozigóticos de alguns polimorfismos genéticos têm um défice parcial de DPD. Doentes com défice total ou parcial de DPD tratados com dose terapêutica de FPs podem ficar expostos a níveis tóxicos do fármaco aumentando o risco de desenvolver toxicidade grave.

Atualmente, a utilidade clínica destes biomarcadores está bem estabelecida para quatro variantes *DPYD* (*DPYD**2A, c.2846A>T, c.1679T>G e c.1236G>A), já que demonstraram estar funcionalmente associadas com risco aumentado de toxicidade. A segurança do paciente no tratamento com FPs pode ser significativamente melhorada pela genotipagem preditiva destas variantes, com proposta de redução de dose na presença de variantes. Com base na avaliação crítica dos dados atualmente disponíveis, é recomendado o ajuste das doses de FPs, orientado pela genotipagem dos 4 SNPs no gene *DPYD* (tabela 1) (Henricks et al., 2017). A total falta de atividade DPD é uma contra-indicação para o tratamento com fármacos contendo 5-FU. Um estudo publicado recentemente em França calculou que 76.200 pacientes por ano recebem quimioterapia com fluoropirimidinas, 1.200 dos quais sofrem de toxicidade com risco de vida, com 150 mortes

de pacientes por ano (Wormann et al., 2020). Em doentes que receberam doses totais de FP e que eram portadores de variantes patogénicas do gene *DPYD*, o risco de mortalidade relacionada com o tratamento era 25,6 vezes maior, com um risco absoluto de mortalidade de até 3,7% para pacientes portadores de qualquer um dos polimorfismos c.1905+1G>A, c.1679T>G ou c.2846A>T. Adicionalmente, dados de estudos prospetivos evidenciaram que a redução da dose de FPs protege contra toxicidades da quimioterapia em portadores de variantes *DPYD*. A genotipagem do gene *DPYD* é uma ferramenta útil para identificar pacientes em risco para toxicidade fatal associada a quimioterapia com FPs (Sharma et al., 2021).

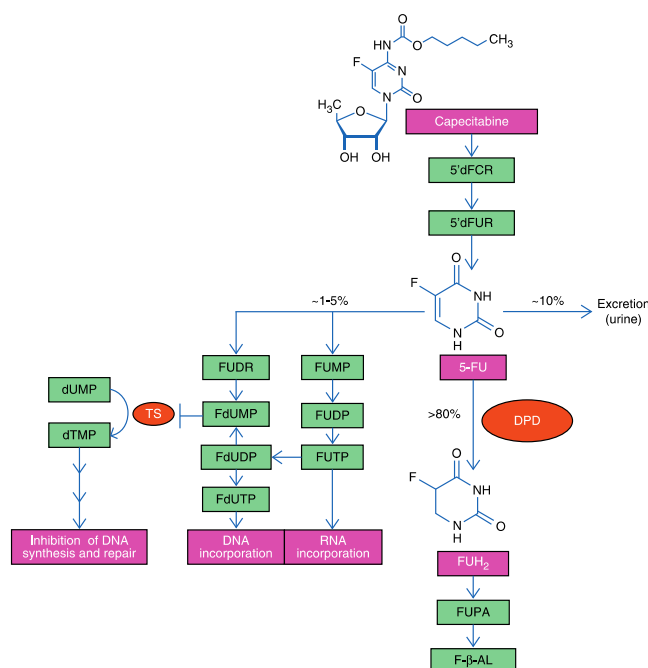
Tabela 1 - Recomendações iniciais da dose para portadores heterozigóticos do alelo variante do gene *DPYD* (adaptado de Henricks et al., 2017)

Recomendações iniciais da dose para portadores heterozigóticos do alelo variante do <i>DPYD</i>	
Variantes genéticas <i>DPYD</i>	% da dose ajustada de Fluoropirimidinas*
<i>DPYD</i>*2A	50
c.2846A>T	50
c.1679T>G	75
c.1236G>A	75
<i>*para pacientes com deficiência completa de DPD (por exemplo, portadores homozigóticos do alelo variante <i>DPYD</i>), é recomendada a seleção de tratamento alternativo.</i>	

2.1.1 Metabolismo das fluoropirimidinas

Após a administração, a pró-droga capecitabina é convertida gradualmente em 5-FU. Apenas uma pequena fração de 5-FU (1%–5%) é convertida intracelularmente nos metabólitos citotóxicos fluorodesoxiuridina monofosfato (FdUMP), trifosfato de fluorodesoxiuridina (FdUTP) e trifosfato de fluorouridina (figura 1). Além disso, a enzima DPD converte 80% da dose de 5-FU no metabólito inativo 5,6-di-hidro-5-fluorouracil (FUH2), que torna a DPD a enzima controladora da taxa de inativação do 5-FU (figura 1). A quantidade de 5-FU disponível para a conversão em metabólitos citotóxicos é, portanto, determinada principalmente pela atividade sistémica da DPD. A enzima DPD é principalmente expressa no fígado, o principal local de metabolismo do 5-FU. A atividade DPD varia amplamente entre os pacientes, com uma estimativa 3% a 8% da população sendo parcialmente deficiente em DPD, tendo uma atividade enzimática menor, aproximadamente

O polimorfismo *DPYD**2A (IVS14p1G>A; c.1905p1G>A; rs3918290) é o mais estudado tendo sido descrito como funcionalmente relevante. (Henricks et al., 2017) Foi descrito que as frequências alélicas de *DPYD**2A variam entre 0,1% e 1,0% em populações afro-americanas e caucasianas, respetivamente (Henricks et al., 2017).



50 dFCR, 50 -deoxy-5-fluorocytidine; 50 dFUR, 50 -deoxy-5-fluorouridine; 5-FU, 5-fluorouracil; DPD, dihydropyrimidine dehydrogenase; dTMP, deoxythymidine monophosphate; dUMP, deoxyuridine monophosphate; FdUDP, fluorodeoxyuridine diphosphate; FdUMP, fluorodeoxyuridine monophosphate; FdUTP, fluorodeoxyuridine triphosphate; FUDP, fluorouridine diphosphate; FUDR, fluorodeoxyuridine; FUH2, 5,6-dihydro-5-fluorouracil; FUMP, fluorouridine monophosphate; FUPA, fluoro-b-ureidopropionate; FUTP, fluorouridine triphosphate; F-b-AL, fluoro-b-alanine; TS, thymidylate synthase.

Tabela 2 - Exemplo de alertas estabelecidos pela FDA que devem ser tidos em conta durante os tratamentos com capecitabina com base no biomarcador genético *DPYD*. Adaptado de Table of Pharmacogenomics Biomarkers in Drug Labeling (2017)

Fármaco	Capecitabina
Área terapêutica	Oncologia
<i>Biomarcador</i>	<i>DPYD</i>
Advertências e precauções de utilização	Mutações heterozigóticas ou homozigóticas no gene <i>DPD</i> resultam na ausência quase completa de atividade da enzima <i>DPD</i> (dihidropirimidina desidrogenase) e como consequência doentes portadores de tais mutações apresentam um risco aumentado de toxicidade aguda e reações adversas graves, podendo pôr em causa a vida do doente (por exemplo, mucosite, diarreia, neutropenia e neurotoxicidade). Não está definida nenhuma dose de capecitabina segura para doentes com atividade nula ou parcial da <i>DPD</i> .
Informação ao doente	Os doentes devem ter consciência da sua condição e têm o dever de avisar o médico. Caso o doente seja portador de uma mutação no gene <i>DPYD</i> , deve ser alertado para a ocorrência de possíveis efeitos adversos durante a toma de capecitabina.

2.2 Repercussão económica da genotipagem *DPYD* na terapêutica com fluoropirimidinas

O teste genético do *DPYD* é usado para identificar pacientes com défice de *DPD*, a fim de orientar as decisões de tratamento e potencialmente evitar o uso de drogas quimioterápicas que podem não ser bem toleradas. O teste prospetivo envolve testar pacientes antes de receberem quimioterapia, com o propósito de prevenir efeitos colaterais adversos graves. O impacto nos custos da genotipagem *DPYD* depende de vários fatores, incluindo o custo do próprio teste, o custo do tratamento de pacientes que apresentam efeitos colaterais graves e a poupança potencial de evitar o uso de certos medicamentos quimioterápicos em pacientes com deficiência de *DPD*.

Numa análise baseada em modelo para avaliar a relação custo-efetividade da realização da genotipagem do gene *DPYD* para triar os que tinham défice de *DPD*, verificou-se uma maior sobrevida ajustada à qualidade e um acréscimo de custo razoável do ponto de vista económico (Brooks et al., 2022). A análise de custo-efetividade incluiu os polimorfismos c.1129-5923C>G (HapB3), c.1679T>G (*13), c.1905+1G>A (*2A) e c.2846A>T, tendo sido usado um modelo

Markov para 5 anos, tendo sido realizada na perspetiva do sistema de saúde dos Estados Unidos da América. Da comparação entre os pacientes que não fizeram genotipagem versus os que fizeram, verificou-se um aumento dos custos por paciente em US\$78 e a melhoria de 0,0038 anos de vida ajustada pela qualidade (QALYs), levando a um rácio de custo-efetividade incremental (ICER) de \$20.506 por QALY (Brooks et al., 2022). Adicionalmente, em análises de sensibilidade unidirecional, o ICER excedeu os \$ 50.000 por QALY quando o custo do teste de genotipagem *DPYD* foi superior a \$286. Os autores demonstraram que em doentes com cancro do cólon elegíveis para FPs, a genotipagem do *DPYD* pré-tratamento era uma estratégia custo-efetiva.

Outro estudo de análise económica (Murphy et al., 2018) avaliou se a análise prospetiva das mutações *DPYD* em todos os pacientes que iniciam essa terapia seria mais económica do que o teste reativo de pacientes com toxicidade grave. Todos os pacientes com toxicidade grave da quimioterapia à base de fluoropirimidinas para cancro colorretal num hospital privado durante um período de 3 anos foram testados para 4 polimorfismos *DPYD* previamente associados à toxicidade. Os custos associados por toxicidade em pacientes com deficiência de DPD foram examinados. Foi feita uma análise de custos comparando o custo antecipado da implementação da triagem para mutações *DPYD* versus o tratamento usual atual. Dos 134 pacientes que iniciaram quimioterapia de primeira linha com fluoropirimidinas ao longo de 3 anos, 30 (23%) desenvolveram toxicidade grave (grau 3/4). Destes, 17% revelaram mutações *DPYD* heterozigóticas. O custo da hospitalização para os pacientes com mutação *DPYD* foi € 232.061, enquanto o teste prospetivo de genotipagem *DPYD* de todos os 134 pacientes teria custado € 23.718. O teste de genotipagem *DPYD* resultaria em poupança de custos em todos os cenários. Concluiu-se que o custo de internamento hospitalar por toxicidade grave relacionada com FPs é significativamente maior do que o custo de teste *DPYD*, prospetivamente realizado pré-quimioterapia com FPs (Murphy et al., 2018).

3. Metodologia

3.1 População

No total, 536 doentes com cancro e elegíveis para tratamento com fluoropirimidinas no Serviço de Oncologia Médica do Centro Hospitalar Universitário de Santo António (CHUSA) foram incluídos no estudo, entre fevereiro 2020 e março 2023. Foram incluídos todos os doentes oncológicos submetidos a quimioterapia (QT) com 5-fluorouracilo (5-FU) ou capecitabina (Cap) em alguma fase do seu tratamento, de acordo com o registo de pedido dos fármacos na Farmácia Hospitalar. Cento e trinta e quatro foram excluídos devido a terem iniciado o tratamento com FP's antes de janeiro de 2021, enquanto 92 foram removidos do estudo por nunca terem recebido FP's, ou perdidos para *follow-up*, ou não existir informação clínica completa (Figura 2).

Trezentos e dez doentes foram submetidos a tratamento com FPs durante o curso da doença oncológica, no período entre janeiro de 2021 e dezembro de 2022 e incluídos neste estudo observacional prospetivo. Destes, 139 tiveram acesso ao teste genético preditivo *DPYD* (coorte teste genético, CTG), após a sua implementação no CHUSA em janeiro 2022. Como grupo de controlo, foram incluídos os doentes submetidos a FPs durante 2021, pré-implementação do teste genético *DPYD* (coorte histórica, CH).

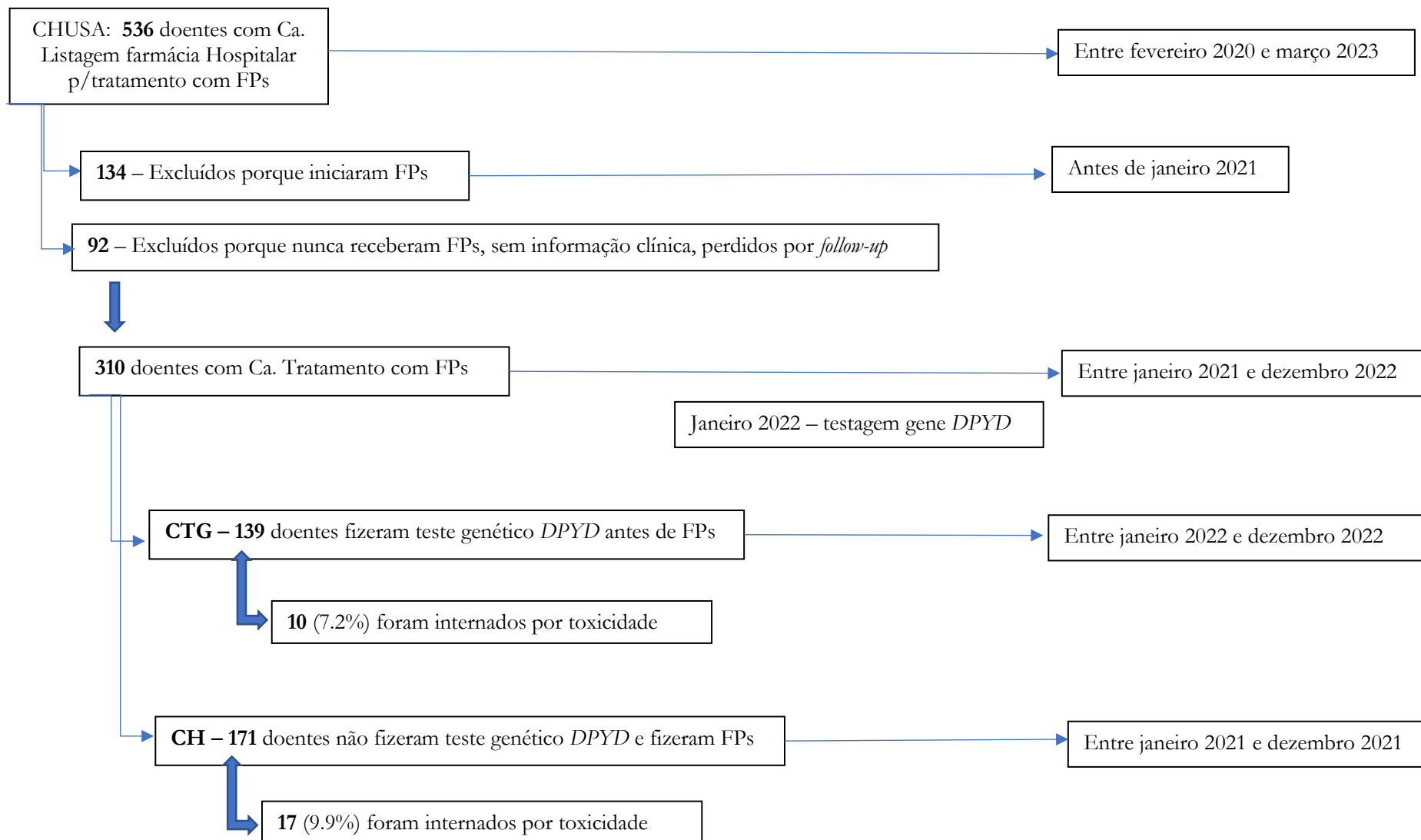


Figura 2 - Esquema ilustrativo do *workflow* do estudo

3.2 Objetivos do estudo

O presente estudo pretende analisar o impacto clínico e custos em doentes oncológicos submetidos a genotipagem do gene *DPYD*, comparado com uma coorte histórica, analisando o valor preditivo da genotipagem, usando como *endpoints* a gravidade, necessidade de internamento e morte associados a toxicidade por FPs.

O presente estudo pretende efetuar uma avaliação económica da realização de uma genotipagem do gene *DPYD* em todos os doentes oncológicos a submeter a tratamentos com FPs. Para tal, serão comparados os custos entre duas coortes de doentes: aquela que realizou a genotipagem *DPYD*, constituída pelos doentes tratados no CHUSA após a implementação do teste e a coorte dos doentes que não realizaram essa genotipagem prévia, pelo que sofreram episódios de toxicidade. Como resultados clínicos, foram analisados os seguintes endpoints: toxicidade, gravidade, necessidade de internamento e morte associados a toxicidade por FPs.

3.3 Procedimentos

Para todos os participantes, foi efetuada uma revisão da informação demográfica e clínica quanto à ocorrência de eventos de toxicidade e sua gravidade, classificados segundo os critérios CTCAE 5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events), necessidade de internamento por toxicidade e morte associada a toxicidade, e custos associados aos internamentos. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do CHUSA (referência 2023.051).

Os polimorfismos genéticos de interesse do gene *DPYD* foram genotipados por PCR em Tempo Real (*Roche Diagnostics LightCycler 480*) utilizando o kit *LightMix Multi-SNP DPYD* (ref 40-2002-64), com análise de curvas de *melting* para deteção dos genótipos. Verificou-se concordância completa em 5% das amostras.

Os doentes da coorte de teste genético foram submetidos a um algoritmo de redução de dose de FPs para os portadores heterozigóticos de qualquer uma das variantes testadas. Os critérios de redução de dose seguiram as recomendações CPIC de acordo com o cálculo do score genético (Amstutz et al., 2018; Lunenburg et al., 2020).

Relativamente à metodologia de elaboração de custos das toxicidades associadas a FPs, foram colhidos dados de segurança e eficácia, assim como dos recursos utilizados a cada episódio de toxicidade. O processo clínico dos doentes submetidos a internamento foram avaliados e determinados os respetivos GDH associados à toxicidade, para calcular o custo total do tratamento por doente. A variação na utilização dos recursos reflete as diferenças no nível de gravidade das toxicidades entre indivíduos. Foi utilizada a tabela de preços do Serviço Nacional de Saúde,

constante na Portaria n.º 254/2018, de acordo com a classificação em Grupos Diagnóstico Homogéneos (GDHs), para atribuição de custos durante o internamento em função da situação e gravidade clínica de cada doente.

Uma vez que o objetivo da análise era comparar o custo associado à toxicidade, dados específicos sobre as doses de FPs em cada ciclo e custos específicos para outros quimioterápicos não foram considerados, uma vez que seriam similares em ambos os braços do estudo. Assim, foram incluídos apenas os doentes tratados com FPs que desenvolveram doença grave e necessitaram internamento, uma vez que é neste contexto que se verifica o maior consumo de recursos associados a toxicidade e consequentemente maiores custos. De facto, a maioria dos episódios de toxicidade associados a FPs são resolvidos clinicamente, sem adição significativa de recursos, com redução de dose, alteração do regime de quimioterapia, cessação do tratamento com FPs, tratamento farmacológico dirigido a efeitos colaterais relacionados com toxicidades, motivo pelo qual não se esperavam diferenças entre as duas coortes.

Foram considerados os seguintes eventos associados a toxicidade por FPs: eventos hepáticos, pancreatite aguda, síndrome mão-pé, hematoquézias, eventos neurológicos, eventos cardiovasculares, náuseas e vômitos, infeções, trombocitopenia, leucopenia, neutropenia febril e estomatite.

Os custos totais incluíram o custo do teste de genotipagem para os doentes da coorte CTG. O custo do teste é de 78,2 euros e inclui extração de DNA, reagentes para genotipagem, e recursos humanos técnicos e médicos, como consta do GDH respetivo (Portaria n.º 254/2018). Neste estudo de coorte, foram consideradas as toxicidades e custos do grupo de doentes oncológicos submetidos a tratamento com FPs, com genotipagem do gene *DPYD*, e realizado um estudo comparativo com um grupo de doentes tratados, mas sem conhecimento prévio do perfil genético do *DPYD*. A poupança de custos foi calculada como a diferença entre os custos diretos de internamento da coorte CTG versus a CH.

3.4 Análise estatística

O desvio da normalidade foi testado nas variáveis contínuas através do teste *Shapiro-Wilk*. De acordo com a normalidade das variáveis contínuas, a comparação de valores de tendência central, média $\pm$ erro padrão ou mediana (intervalo inter-quartil), entre grupos foi efetuada através do teste *t-Student* e do teste *Mann-Whitney U*, respetivamente. Algumas variáveis contínuas foram categorizadas em tercis (idade) ou de acordo com *cutoffs* clínicos. A sua descrição foi efetuada através da frequência (percentagem relativa) e a comparação de proporções realizada através do teste Qui-quadrado. Foi efetuada regressão logística binomial univariada para analisar empiricamente a associação entre as variáveis clínicas e variáveis genéticas em relação com os *outcomes* de toxicidade, com indicação dos riscos (razão de riscos e intervalo de confiança 95%). A análise de regressão logística multivariada foi efetuada para avaliar o valor preditivo das variáveis genéticas (riscos relativos e respetivos intervalos de confiança 95%) em relação com os *endpoints* de toxicidade.

A mediana e somatório dos custos totais (em euros) associados a internamentos por toxicidade foram calculados. Utilizou-se o software SPSS e Excel para a análise estatística e considerou-se significativo sempre que $P < 0.05$.

4. Resultados

4.1 Caracterização da amostra e resultados clínicos

Os grupos em estudo encontram-se caracterizados do ponto de visto demográfico e clínico na tabela 3. Os dois grupos foram comparáveis em relação à idade, ECOG-PS, tipo de cancro e estadio clínico. Verificou-se na coorte histórica sobre-representação de homens (67.3% versus 50.4%) e maior frequência de utilização de 5-FU no primeiro tratamento com FPs (67.8% versus 48.9%), comparativamente com a coorte com teste genético.

Tabela 3 - Descrição e análise comparativa das características demográficas e clínicas das coortes em estudo

	Total (N=310)	CH (n=171)	CTG (n=139)	P *
Idade, anos				
< 60	95 (30.6)	55 (32.2)	40 (28.8)	
60-70	100 (32.3)	57 (33.3)	43 (30.9)	
≥ 70	115 (37.1)	59 (34.5)	56 (40.3)	0.523
Género				
Feminino	125 (40.3)	56 (32.7)	69 (49.6)	
Masculino	185 (59.7)	115 (67.3)	70 (50.4)	0.003
Neoplasia				
Tubo digestivo + HBP	272 (87.7)	145 (84.8)	127 (91.4)	
Outras	38 (12.3)	26 (15.2)	12 (8.6)	0.079
Escala ECOG-PS				
0	108 (34.8)	62 (36.3)	46 (33.1)	
1	168 (54.2)	95 (55.6)	73 (52.5)	
2	34 (11.0)	14 (8.2)	20 (14.4)	0.219
Estadio Clínico				
I/II	37 (11.9)	20 (11.7)	17 (12.2)	
III/IV	273 (88.1)	151 (88.3)	122 (87.8)	0.885
1º tratamento com FPs				
Capecitabina	126 (40.6)	55 (32.2)	71 (51.1)	
5-FU	184 (59.4)	116 (67.8)	68 (48.9)	<0.001

* teste Qui-quadrado de Pearson; variáveis categóricas expressas em frequência (percentagem). HBP, hepato-bilio-pancreático. Outras, inclui 10 casos de mama, 22 de cabeça/pescoço e 6 adenocarcinomas de primário oculto ou neuroendócrinos. ECOG-PS, Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status. FP, fluoropirimidinas. 5-FU, 5- fluorouracilo, CH, coorte histórica, CTG, coorte teste genético

Na população estudada, apenas 15/310 (4.8%) doentes submetidos a FPs não tiveram qualquer tipo de toxicidade, observando-se, no entanto, que 30.5% das toxicidades foram formas graves ≥ 3 . Associado aos efeitos da toxicidade, 17,1%, 9.2% e 1.7% dos doentes tiveram necessidade de parar o tratamento com FPs, ser internado e morreram, respetivamente. Os dois grupos foram comparáveis no que diz respeito aos *endpoints* de toxicidade estudados (Tabela 4). Não foram observadas mortes associadas a toxicidade por FPs no grupo que realizou teste genético, enquanto no grupo controlo 5 doentes (3%) tiveram toxicidade fatal, verificando-se tendência para significância estatística para mortalidade na CH ($P=0.068$).

Tabela 4 - Toxicidades associadas a fluoropirimidinas na população estudada			
Toxicidade	CH (n=171)	CTG (n=139)	P *
Qualquer toxicidade			
Não	7 (4.1)	8 (5.8)	
Sim	164 (95.9)	131 (94.2)	0.498
Grau de toxicidade			
1-2	118 (72.0)	87 (66.4)	
≥ 3	46 (28.0)	44 (33.6)	0.305
Necessidade de parar FPs por toxicidade			
Não	137 (83.5)	105 (80.2)	0.653
Sim	27 (16.5)	26 (19.8)	
Necessidade de internamento por toxicidade			
Não	147 (89,6)	121 (92,4)	0.688
Sim	17 (10,4)	10 (7,6)	
Morte associada a toxicidade			
Não	159 (97.0)	131 (100.0)	
Sim	5 (3.0)	0 (0.0)	0.068 **

* teste Qui-quadrado de Pearson, ** teste exato de Fisher. CH, coorte histórica, CTG, coorte teste genético

Foi efetuada uma análise empírica por regressão logística com o intuito de avaliar a associação e valor preditivo das variáveis relevantes em relação com os vários endpoints de toxicidade (Tabela 5). O género feminino tem risco acrescido para toxicidade ($OR=10.2$, $IC95\%=1.3-78.2$, $P=0.026$), particularmente toxicidade mais grave (grau ≥ 3) ($OR=1.6$, $IC95\%=1.0-2.6$, $P=0.067$). Adicionalmente, verificou-se que os doentes ≥ 70 anos apresentaram maior risco para suspensão de tratamento com FPs por toxicidade ($OR=2.6$, $IC95\%=1.3-5.5$, $P=0.009$). Por outro lado, as variáveis clínicas ECOG-PS e tipo de fluoropirimidina administrado revelaram-se fatores preditivos associados a risco de toxicidade. Os doentes com ECOG-PS 2 no início do tratamento tiveram risco aumentado para toxicidade grave ($OR=2.9$, $IC95\%=1.3-6.5$, $P=0.011$), para parar tratamento devido a toxicidade ($OR=3.5$, $IC95\%=1.4-9.0$, $P=0.008$) e com necessidade de internamento ($OR=4.4$, $IC95\%=1.4-14.4$, $P=0.013$). Nos doentes sob tratamento com 5-FU

observou-se tendência para toxicidade grave (OR=1.6, IC95%=0.9-2.6, P=0.013) e risco aumentado para necessidade de internamento (OR=2.8, IC95%=1.1-7.0, P=0.034).

A associação entre os marcadores genéticos e os endpoints estudados de toxicidade estão apresentados na tabela 6. Verificou-se, que ser portador de mutação conferia proteção para ocorrência de toxicidade (OR=0.12, IC95%=0.02-0.7, P=0.023) e que existia uma sobre-representação de heterozigóticos AT do polimorfismo 2846 no grupo sem toxicidade (P=0.003). Todos os doentes portadores de variantes *DPYD* receberam doses reduzidas de FPs de acordo com as *guidelines* de tratamento.

No grupo com teste genético, 7/139 (5%) apresentaram mutações genéticas, 2 heterozigóticos do polimorfismo *2A (1.4%), 3 heterozigóticos do polimorfismo Hap3 (2.2%), 2 heterozigóticos 2846 (1.4%) e nenhum portador da variante *13.

Nos doentes submetidos a teste genético *DPYD* (n=139), foi efetuada uma regressão logística multivariada incluindo o perfil mutacional do *DPYD* e outras variáveis clínicas com valor preditivo para toxicidade a FPs (Tabela 7). Os indivíduos portadores de mutações no *DPYD* e os de género masculino apresentam proteção para o desenvolvimento de toxicidade (P bootstrap=0.001 e P=0.028, respetivamente). Quanto à necessidade de parar o tratamento de quimioterapia devido a toxicidade, verificou-se por um lado que o aumento da idade estava associado a risco aumentado (P bootstrap=0.003), enquanto o género masculino estava protegido (P bootstrap=0.048). Relativamente ao risco de internamento por toxicidade, observou-se que os doentes com pior ECOG-PS (2) à data de início de tratamento com FPs exibiam, um risco aproximadamente 6x superior de internamento (P bootstrap=0.018). Nenhuma das variáveis estudadas estava associada de modo estatisticamente significativo a toxicidade grave (grau ≥ 3).

Tabela 5 - Análise empírica com regressão logística binomial, das variáveis associadas aos endpoints de toxicidade induzida por fluoropirimidinas

	Toxicidade			Gravidade de severidade			STOP QT por Toxicidade			Internamento por Toxicidade			Morte associada a Toxicidade		
	Não	Sim	OR(IC95)	1-2	3-4	OR(IC95)	Não	Sim	OR(IC95)	Não	Sim	OR(IC95)	Não	Sim	OR(IC95)
Idade															
< 60	8(53.3)	87(29.5)	Ref.	63(30.7)	24(26.7)	Ref.	75(32.5)	12(18.8)	Ref.	82(30.6)	5(18.5)	Ref.	86(29.7)	1(20.0)	Ref.
60 – 70	3(20.0)	97(32.9)	3.0(0.8-11.6)	72(35.1)	25(27.8)	0.9(0.5-1.8)	78(33.8)	19(29.7)	1.5(0.7-3.4)	87(32.5)	10(37.0)	2.0(0.7-6.1)	96(33.1)	1(20.0)	0.9(0.1-14.5)
≥ 70	4(26.7)	111(37.6)	2.6(0.7-8.8)	70(34.1)	41(45.6)	1.5(0.8-2.8)	78(33.8)	33(51.6)	2.6 (1.3-5.5)	99(36.9)	12(44.4)	2.1(0.7-6.2)	108(37.2)	3(60.0)	2.4(0.2-23.2)
Género															
Fem	1(6.7)	124(42.0)	Ref.	79(38.5)	45(50.0)	Ref. **	98(40.5)	26(49.1)	Ref.	113(42.2)	11(40.7)	Ref.	123(42.4)	1(20.0)	Ref.
Masc	14(93.3)	171(58.0)	0.1(0.01-0.8)	126(61.5)	45(50.0)	0.6(0.4-1.0)	144(59.5)	27(50.9)	0.7(0.4-1.3)	155(57.8)	14(59.3)	1.0(0.4-2.2)	167(57.6)	4(80.0)	2.9(0.3-26.7)
Cancro															
Digestivo/HBP	10(66.7)	262(88.8)	Ref.	183(89.3)	79(87.8)	Ref.	214(88.4)	48(90.6)	Ref.	240(89.6)	22(81.5)	Ref.	258(89.0)	4(80.0)	Ref.
Outros	5(33.3)	33(11.2)	0.3(0.1-0.8)	22(10.7)	11(12.2)	1.2(0.5-2.5)	28(11.6)	5(9.4)	0.8(0.3-2.2)	28(10.4)	5(18.5)	1.7(0.6-4.9)	32(11.0)	1(20.0)	2.0(0.2-18.6)
ECOG-PS															
0	3(20.0)	105(35.6)	Ref.	79(38.5)	26(28.9)	Ref.	92(38.0)	13(24.5)	Ref.	99(36.9)	6(22.2)	Ref.	104(35.9)	1(20.0)	Ref.
1	11(73.3)	157(53.2)	0.4(0.1-1.5)	109(53.2)	48(53.3)	1.3(0.8-2.3)	128(52.9)	29(54.7)	1.6(0.8-3.3)	143(53.4)	14(51.9)	1.5(0.6-4.2)	155(53.4)	2(40.0)	1.3(0.1-15.0)
2	1(6.7)	33(11.2)	0.9(0.1-9.4)	17(8.3)	16(17.8)	2.9(1.3-6.5)	22(9.1)	11(20.8)	3.5(1.4-9.0)	26(9.7)	7(25.9)	4.4(1.4-14.2)	55(10.7)	2(40.0)	6.7(0.6-76.5)
Estadio clínico															
I-II	0(0.0)	37(12.5)	Ref.	27(13.2)	10(11.1)	Ref.	28(11.6)	9(17.0)	Ref.	34(12.7)	3(11.1)	Ref.	36(12.4)	1(20.0)	Ref.
III-IV	15(100)	258(87.5)	0.231 *	178(86.8)	80(88.9)	1.2(0.6-2.6)	214(88.4)	44(83.0)	0.6(0.3-1.5)	234(87.3)	24(88.9)	1.1(0.3-3.8)	254(87.6)	4(80.0)	0.6(0.1-5.2)
FPS															
Capecitabina	2(13.3)	124(42.0)	Ref.	93(45.4)	31(34.4)	Ref. **	98(40.5)	26(49.1)	Ref.	118(44.0)	6(22.2)	Ref.	122(42.1)	2(40.0)	Ref.
5 – FU	13(86.7)	171(58.0)	0.2(0.05-0.96)	112(54.6)	59(65.6)	1.6(0.9-2.6)	144(59.5)	27(50.9)	0.7(0.4-1.3)	150(56.0)	21(77.8)	2.6(1.01-6.6)	168(57.9)	3(60.0)	1.1(0.2-6.6)

* valor de P, teste Qui-quadrado de Pearson ou teste Fisher, ** P<0.1, com tendência estatística. STOP FPs, Necessidade de parar tratamento com fluoropirimidinas devido a toxicidade. OR, odds ratio; IC95, intervalo confiança 95%. FPs, fluoropirimidinas; 5-FU, 5-fluorouracilo

Tabela 6 - Análise de regressão logística univariada da análise genética *DPYD* e associação dos polimorfismos genéticos com os endpoints de toxicidade induzida por fluoropirimidinas

	Toxicidade			Gravidade de Toxicidade			STOP QT por Toxicidade			Internamento por Toxicidade			Morte associada a Toxicidade		
	Não	Sim	OR(IC95)	1-2	3-4	OR(IC95)	Não	Sim	OR(IC95)	Não	Sim	OR(IC95)	Não	Sim	OR(IC95)
Teste genético															
Não	7(46.7)	164(55.6)	Ref.	118(57.6)	46(51.1)	Ref.	137(56.6)	27(50.9)	Ref.	148(55.2)	17(63.0)	Ref.	159(54.8)	5(100.0)	
Sim	8(53.3)	131(44.4)	0.7(0.2-2.2)	87(42.4)	44(48.9)	1.3(0.8-2.1)	105(43.4)	26(49.1)	1.3(0.7-2.3)	120(44.8)	10(37.0)	0.7(0.3-1.6)	131(45.2)	0(0.0)	0.068 *
Mutações <i>DPYD</i>															
<i>Wildtype</i>	6(75.0)	126(96.2)	Ref.	83(95.4)	43(97.7)	Ref. **	103(94.5)	29(96.7)	Ref.	122(95.3)	10(90.9)	Ref.	132(95.0)	0(0.0)	
Mutação	2(25.0)	5(3.8)	0.1(0.02-0.7)	4(4.6)	1(2.3)	0.5(0.1-4.5)	6(5.5)	1(3.3)	0.6(0.1-5.1)	6(4.7)	1(9.1)	2.0(0.2-18.6)	7(5.0)	0(0.0)	-- ^a
<i>DPYD</i> *2A															
GG	8(100.0)	129(98.5)		86(98.9)	43(97.7)		104(99.0)	25(96.2)		119(99.2)	10(90.9)		2(1.5)	0(0.0)	
GA	0(0.0)	2(1.5)	1.000 *	1(1.1)	1(2.3)	1.000 *	1(1.0)	1(3.8)	0.407 *	1(0.8)	1(9.1)	0.161 *	129(98.5)	0(0.0)	-- ^a
<i>DPYD</i> *13															
TT	8(100.0)	131(100)		87(100.0)	44(100)		105(100)	22(100)		120(100)	11(100)		131(100)	0(0.0)	
TG	0(0.0)	0(0.0)	-- ^b	0(0.0)	0(0.0)	-- ^b	0(0.0)	0(0.0)	-- ^b	0(0.0)	0(0.0)	-- ^b	0(0.0)	0(0.0)	-- ^a
<i>DPYD</i> Hap3															
CC	8(100.0)	128(97.7)		84(96.6)	44(100)		102(97.1)	26(100)		117(97.5)	11(100)		128(97.7)	0(0.0)	
CG	0(0.0)	3(2.3)	1.000 *	3(3.4)	0(0.0)	0.550 *	3(2.9)	0(0.0)	1.000 *	3(2.5)	0(0.0)	1.000 *	3(2.3)	0(0.0)	-- ^a
<i>DPYD</i> 2846															
AA	6(75.0)	131(100)		87(100)	44(100)		105(100)	26(100)		120(100)	11(100)		131(100)	0(0.0)	
AT	2(25.0)	0(0.0)	0.003 *	0(0.0)	0(0.0)	-- ^b	0(0.0)	0(0.0)	-- ^b	0(0.0)	0(0.0)	-- ^b	0(0.0)	0(0.0)	-- ^a

* Devido à reduzida frequência de variantes genéticas para os polimorfismos estudados, não foi possível efetuar regressão logística para estas variáveis, valor de P calculado através do teste Qui-quadrado de Pearson ou teste Fisher. ** P<0.1, com tendência estatística. QT, quimioterapia. ^a não foi possível efetuar regressão logística devido a ausência de doentes falecidos no grupo que efetuou teste genético. ^b não foi possível calcular valor de P (qui-quadrado) por existirem 2 células com frequência = zero.

Tabela 7 - Análise de regressão logística multivariada incluindo o perfil farmacogenético DPYD e covariáveis com valor preditivo para endpoints de toxicidade

	Toxicidade			Toxicidade Grau 3-4			STOP QT por Toxicidade			Internamento por Toxicidade		
	HR (IC95%)	P	P ^a	HR (IC95%)	P	P ^a	HR (IC95%)	P	P ^a	HR (IC95%)	P	P ^a
Idade *	1.0(0.9-1.1)	0.928	0.880	1.03(1.0-1.1)	0.121	0.222	1.1(1.02-1.13)	0.006	0.003	1.05(1.0-1.1)	0.188	0.068
Género masculino	0.1(0.02-1.3)	0.082	0.028	0.5(0.2-1.1)	0.081	0.088	0.4(0.1-0.9)	0.030	0.048	0.7(0.2-2.7)	0.624	0.649
Outros cancros ^d	0.3(0.03-3.8)	0.366	0.136	1.5(0.3-6.5)	0.585	0.582	1.4(0.3-7.2)	0.663	0.608	1.9(0.2-20.8)	0.595	0.335
Estadio avançado, III-IV	--	0.998	0.087	1.2(0.4-4.2)	0.723	0.739	0.7(0.2-2.5)	0.579	0.549	1.7(0.2-18.4)	0.680	0.414
ECOG-PS ^c												
1	0.2(0.01-1.6)	0.121	0.129	0.6(0.2-1.4)	0.211	0.204	0.8(0.3-2.2)	0.623	0.624	1.1(0.2-6.4)	0.948	0.809
2	0.2(0.01-4.7)	0.336	0.086	3.0(0.9-9.7)	0.064	0.092	2.4(0.7-8.8)	0.173	0.221	5.8(1.0-34.8)	0.053	0.018
Tratamento com 5-FU ^b	0.3(0.06-2.1)	0.240	0.204	1.2(0.5-2.6)	0.718	0.712	0.8(0.3-1.9)	0.574	0.591	1.1(0.3-4.4)	0.840	0.844
Com mutação <i>DPYD</i>	0.07(0.01-0.9)	0.041	0.001	0.4(0.04-4.4)	0.471	0.231	0.7(0.1-6.6)	0.724	0.390	2.6(0.2-31.2)	0.459	0.331

* idade incluída como variável contínua. ^a valor de P após *Bootstrap* com 1000 iterações. ^b versus capecitabina. ^c versus ECOG-PS 0. ^d outras neoplasias para além de cancros gastrointestinais e hepático-biliar-pancreáticos. QT, quimioterapia. Não foi possível efetuar regressão logística multivariada considerando como endpoint a mortalidade associada a toxicidade, devido ao número reduzido de eventos. HR, hazard ratio

A frequência de indivíduos portugueses portadores das variantes estudadas foi semelhante às frequências genotípicas encontradas em outros estudos (Fragoulakis et al., 2019; Froehlich et al., 2015; Henricks et al., 2019; Henricks et al., 2018; Murphy et al., 2018; Paulsen et al., 2023; Toffoli et al., 2019). A tabela 8 descreve as frequências genotípicas de várias populações.

Tabela 8 - Frequência de variantes e distribuição genotípica no gene <i>DPYD</i>							
			% de variantes genéticas				
Referência	País	N	Total	HapB3	2846	*2A	*13
Estudo atual, 2023	Portugal	139	5%	2.2%	1.4%	1.4%	0.0%
Paulsen, 2023	Dinamarca	722	9%	5.4%	1.1%	1.1%	0.6%
Henricks, 2018/19	Holanda	1103	7.7%	4.6%	1.5%	1.5%	0.1%
Murphy, 2018	Irlanda	134	3.7%	—	—	2.2%	—
Fragoulakis, 2019	Itália	571	7.5%	—	—	—	—
Toffoli, 2019	Itália	550	6.7%	—	—	—	—
Froehlich, 2015	Suiça	500	3.3%	2.4%	0.3%	0.4%	0.2%

4.2 Comparação de custos

Os custos associados aos internamentos por toxicidade estão detalhados nas tabelas 9, 10 e 11. Custos administrativos, *overheads* e outros custos foram excluídos por se considerar serem equivalentes entre os dois grupos.

Tabela 9 - Valores totais dos custos do internamento decorrentes de toxicidades de acordo com a patologia, nível de severidade e respetivo GDH (Tabela Nacional Grupos de Diagnóstico Homogéneo)

CH (n=17)			
GDH	Patologia	Nível Severidade	Preço do internamento
137	Infeções e/ou inflamações respiratória major	3	3979,56 €
137	Infeções e/ou inflamações respiratórias major	4	7597,63 €
720	Septicemia e/ou infeções disseminadas	2	1814,98 €
425	Perturbações eletrolíticas exceto as relacionadas com hipovolémia	1	742,85 €
249	Gastrenterite não bacteriana, náuseas e/ou vómitos	3	1750,08 €
137	Infeções e/ou inflamações respiratórias major	3	3979,56 €
249	Gastrenterite não bacteriana, náuseas e/ou vómitos	3	1750,08 €
720 + 791	Septicemia e/ou infeções disseminadas e Procedimentos em BO por outras complicações do tratamento	3 + 1	5159,07 €
249	Gastrenterite não bacteriana, náuseas e/ou vómitos	3	1750,08 €
720	Septicemia e/ou infeções disseminadas	2	1814,98 €
425	Perturbações eletrolíticas exceto as relacionadas com hipovolémia	2	1156,9 €
425	Perturbações eletrolíticas exceto as relacionadas com hipovolémia	2	1156,9 €
722	Febre	2	1211,05 €
249	Gastrenterite não bacteriana, náuseas e/ou vómitos	2	928,62 €
249	Gastrenterite não bacteriana, náuseas e/ou vómitos	3	1750,08 €
249	Gastrenterite não bacteriana, náuseas e/ou vómitos	4	5909,92 €
137	Infeções e/ou inflamações respiratórias major	3	3979,56 €
Total =			46 431,9 €

Tabela 10 - Valores totais dos custos do internamento decorrentes de toxicidades de acordo com a patologia, grau de severidade e respetivo GDH (Tabela Nacional Grupos de Diagnóstico Homogéneo) na Coorte teste genético			
CTG (n=10)			
GDH	Patologia	Nível Severidade	Preço do internamento
137	Infeções e/ou inflamações respiratórias major	3	3979,56 €
249	Gastrenterite não bacteriana, náuseas e/ou vómitos	2	923,62 €
139	Outras pneumonias	2	1466,74 €
722	Febre	2	1211,05 €
791	Procedimentos em BO por outras complicações do tratamento	1	1957,33 €
137	Infeções e/ou inflamações respiratórias major	3	3979,56 €
249	Gastrenterite não bacteriana, náuseas e/ou vómitos	2	928,62 €
249	Gastrenterite não bacteriana, náuseas e/ou vómitos	3	1750,08 €
720	Septicemia e/ou infeções disseminadas	2	1814,98 €
190+190	Enfarte agudo do miocárdio	2 + 4	8722,75 €
Total =			26734,3 €
Total incluindo custo teste genético =			27516,3 €

A análise económica mostra que os custos totais de internamento da coorte CTG ascenderam a 26 734,3 €, comparado com 46 431,9 € da CH. Se tivermos também em consideração o valor de 78,2 € por doente na coorte CTG, devido à realização adicional do teste genético *DPYD*, obtemos um total de 27 516,3 € (tabelas 9 e 10). O custo por doente internado na CTG foi de 2673,4 €, em comparação com a CH (2731,3 €) (tabela 11).

Tabela 11 - Mediana e somatórios dos custos (em euros) associados a internamentos por toxicidade

<i>Custos</i>	CH	CTG
<i>Custos com os internamentos</i>	46 431.90 €	26 734.3 €
<i>Mediana dos custos *</i>	1750.1 € (1184.0–3979.6)	1782.53 € (1140.4–3979.6)
<i>Custo médio por doente internado</i>	2731.30 €	2673.4 €
<i>Custo médio por doente da coorte</i>	46 431.90 € /171= 271.53 €	26 734.3/139 = 192.33 €
<i>Custo médio por doente da coorte incluindo o teste genético</i>	271.53 €	270.53 €

* mediana (intervalo inter-quartil).

A figura 3 evidencia a comparação do custo médio por doente entre as duas coortes. Este custo foi mais elevado em 79,2 € por doente na CH.

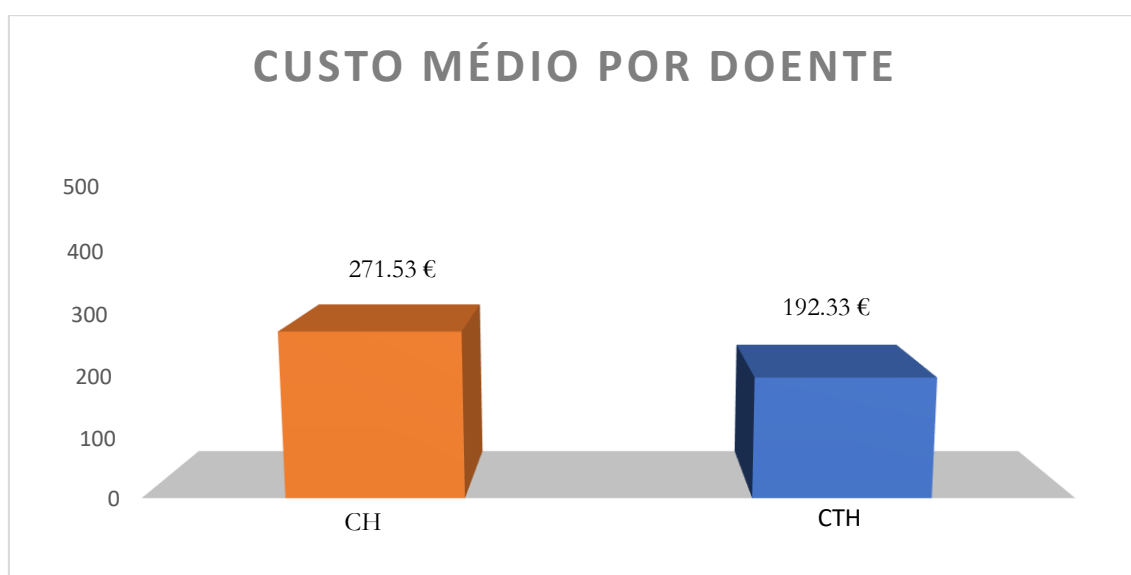


Figura 3 - Custo médio por doente na CH, coorte histórica e CTG, coorte teste genético

6. Discussão

O teste genético *DPYD* tem como objetivo identificar variantes genéticas que estão associadas a uma maior suscetibilidade de desenvolver toxicidade, causadas por quimioterápicos como as FPs, utilizadas no tratamento do cancro, representando um desafio clínico importante.

Assim, o valor preditivo do teste *DPYD*, em doentes oncológicos tratados com FPs visa tentar prever a ocorrência de efeitos adversos graves (neutropenia, toxicidade cardíaca, hematológica, entre outras), evitando tratamentos adicionais, incluindo hospitalizações e até mesmo a morte, ocorrências responsáveis pelo aumento significativo de custos. Os portadores de variantes genéticas são mais suscetíveis a efeitos colaterais graves no tratamento com FPs, orientando o clínico para ajuste de dose do fármaco ou opção por um medicamento alternativo, minimizando complicações e permitindo otimizar a segurança do tratamento, com benefícios para o doente e melhores resultados clínicos.

No presente estudo, em 310 doentes, 95.2% apresentaram toxicidade de qualquer grau em associação com FPs. Esta elevada percentagem de doentes com toxicidade é mais elevada do que o descrito na literatura, com valores próximos de 50% (Froehlich et al., 2015). Por um lado, no nosso estudo foram incluídos doentes com vários tipos de neoplasias, enquanto estudos anteriores apenas incluem cancro colorretal, enquanto por outro, apenas raros casos foram tratados com capecitabina ou 5-FU em monoterapia, tendo sido a maior parte tratados com combinação de fármacos quimioterápicos, o que pode ter contribuído para o aumento de toxicidades verificado. Em relação à frequência de doentes com necessidade de parar o tratamento com FPs devido a toxicidade, verifica-se também grande variabilidade entre estudos. Neste estudo verificou-se que 17.1% pararam tratamento, enquanto na literatura reportam valores entre 6.1 e 23% (Paulsen 2023; Henricks et al., 2019; Henricks et al., 2018; Murphy et al., 2018). De entre os eventos de toxicidade, 30.5% foram de toxicidade grave ≥ 3 , de acordo com o intervalo de variação 14.4%-62%, descrito em vários estudos (Froehlich et al., 2015; Henricks et al., 2019; Henricks et al., 2018; Jennings et al., 2013; Lee et al., 2014; Paulsen et al., 2023). A taxa de internamento nos doentes sob tratamento com FPs foi de 9.2%, concordante com a de 9% observada por Paulsen et al. (2023) é um pouco inferior à descrita por Henricks et al. (2019) e Henricks et al. (2018). A mortalidade foi de 1.7% na nossa coorte, estando descritas frequências inferiores noutros estudos (Paulsen 2023; Henricks et al., 2019; Henricks et al., 2018). Assim, o perfil de toxicidades verificado na coorte em estudo, exceto a elevada frequência de toxicidades menos graves, é enquadrável

nos valores descritos na literatura científica e conferem credibilidade à representatividade dos eventos de toxicidade usados como variável dependente.

A identificação precoce de pacientes com risco aumentado de toxicidade permite reduzir internamentos prolongados, uso de medicamentos adicionais, exames complementares adicionais, intervenções médicas, atraso na recuperação do doente com perda de produtividade, desperdícios de recursos de saúde, pelo que com esta abordagem está implícita uma redução dos custos globais do tratamento. Segundo (Cortejoso et al., 2016) o rastreamento de polimorfismos *DPYD* e respetivo ajuste da dose das FP's é custo-efetivo em comparação com a estratégia de tratamento sem teste genético. Os autores verificaram que o rastreamento e ajuste da dose levaram a uma redução significativa na ocorrência de neutropenia grave e outros eventos adversos, resultando numa redução nos custos diretos associados. No nosso estudo, verificou-se uma redução com tendência para significância estatística no número de mortes associadas a toxicidade na coorte com teste genético. Na perspetiva do SNS, a perda de anos de vida e o respetivo impacto económico para o país com certeza favorecem a realização do teste *DPYD*. Neste estudo, verificou-se uma redução com tendência para significância estatística no número de mortes associadas a toxicidade na coorte com teste genético. A perda de anos de vida e o respetivo impacto económico para o país com certeza favorecem a realização do teste *DPYD*. Noutro estudo, a genotipagem foi associada a maior sobrevida (Brooks et al., 2022). Outros autores constataram que a realização de teste genético preditivo nos pacientes para identificar a presença de variantes de risco estava associado a redução dos custos associados à toxicidade, principalmente devido à redução de hospitalizações, e interrupção do tratamento. (Toffoli et al., 2019). Já (Fragoulakis et al., 2019) realizaram uma análise de custo-benefício e constataram que a genotipagem *DPYD* antes da quimioterapia resultou em poupança significativas dos custos devido à redução das complicações tóxicas e, concomitantemente, à prevenção estimada de cerca de 115 eventos adversos graves, economizando 2,5 milhões de euros/ano. Adicionalmente, (Henricks et al., 2019; Henricks et al., 2018) mostraram que a estratégia de dose individualizada com base no genótipo dos 4 polimorfismos no gene *DPYD* resultou numa redução nos custos médios por paciente em comparação com a estratégia de dose standard. Assim, de acordo com a evidência de outros estudos, o uso rotineiro da genotipagem *DPYD* pode melhorar tanto os resultados clínicos quanto a eficiência dos recursos na saúde, ao evitar eventos adversos graves e reduzir gastos desnecessários com cuidados de saúde (Brooks et al., 2022; Murphy et al., 2018). No estudo atual, os custos de internamento foram baixos na coorte que realizou o teste genético. Mesmo após incluir os

custos de realização dos testes genéticos, verificou-se um custo médio por doente de cada coorte menor no grupo com teste genético. Mesmo com o custo do teste genético o custo médio por doente é menos 1 € por doente na coorte CTG. Desta forma, a genotipagem do gene *DPYD* pré-tratamento com FP, mostrou-se uma opção *cost-saving*, tal como suportado por vários autores ((Fragoulakis et al., 2019; Henricks et al., 2019; Henricks et al., 2018; Longley et al., 2003; Murphy et al., 2018; Paulsen et al., 2023; Toffoli et al., 2019)

Embora a genotipagem acrescente custos adicionais, ela também reduz os custos relacionados à toxicidade das FPs se associada a atitudes de ajustamento terapêutico, com impacto sobretudo nos internamentos e anos de vida perdidos. Relativamente aos internamentos, neste estudo verificou-se na CTG menos internamentos (7.6%) versus CH (10.4%), pelo que pode estar associada a uma diminuição de efeitos colaterais face ao tratamento e menor toxicidades nos doentes CTG.

Deste modo a implementação da genotipagem *DPYD* pode melhorar tanto os resultados clínicos quanto a eficiência dos recursos na saúde, ao reduzir eventos adversos graves, como hospitalizações, e gastos desnecessários com cuidados de saúde.

Apesar das limitações, os resultados encontrados ao longo deste trabalho reforçam a eleição da implementação da genotipagem do gene *DPYD* pré-tratamento com FP's, uma vez que, apesar do custo do teste genético, o benefício é maior do que o custo, com diminuição de eventos de toxicidades e consequentemente mortes evitadas, permitindo melhores resultados em saúde para os doentes. Assim, compreende-se que as políticas de saúde devem ter em conta a acessibilidade à realização do teste genético a todos os doentes oncológicos elegíveis para tratamento com FP'S garantindo deste modo os critérios de qualidade, segurança e eficiência. Apesar do custo inicial do teste genético, os potenciais benefícios económicos a longo prazo podem superar esses custos, sendo este recomendado pela EMA e apesar das frequências genotípicas serem baixas na população, o efeito de toxicidade grave num doente hospitalizado leva a custos muito mais elevados do que o custo do teste de genotipagem, sendo que os estudos apontam para a sua recuperação sendo uma análise custo-efetiva e com benefícios em saúde.

As patologias que envolvem o tratamento com FP's são frequentemente associadas a toxicidades, e podem acarretar elevados custos para os sistemas de saúde. É também neste sentido que a implementação da genotipagem pode ser uma alternativa custo-efetiva apresentando poupanças em termos de custos e ganhos em saúde. Quando comparado o custo medio por doente entre coortes verificou-se que os custos resultantes na CH foram superiores aos da CTG mesmo após inclusão do custo do teste genético.

Neste estudo foram incluídos 139 doentes na coorte submetida a teste genético, dos quais 7 (5%) eram portadores de variante genética. Esta dimensão amostral está abaixo do necessário para conferir um poder estatístico adequado, reduzindo de modo importante a capacidade de detetar diferenças relevantes sob o ponto de vista clínico e económico. Este estudo apenas examinou as mutações *DPYD* clinicamente relevantes associadas funcionalmente a défice funcional da enzima DPD. A sequenciação completa, ou inclusão de outras variantes genéticas na análise poderia ter revelado mais doentes com mutações *DPYD* clinicamente relevantes. Não foi possível incluir informação farmacocinética para avaliar a exposição dos portadores de variantes *DPYD* a FPs com doses reduzidas de FPS.

Sendo este estudo realizado na perspetiva do SNS, conclui-se que a genotipagem *DPYD*, para além de parecer evitar mortes decorrentes de toxicidades, pode também ser uma estratégia eficaz para melhorar os resultados clínicos e a eficiência na utilização dos recursos na saúde, permitindo um uso mais personalizado dos medicamentos. Embora haja custos adicionais associados à realização da genotipagem, eles podem ser compensados pelos benefícios em termos de prevenção de eventos adversos graves, nomeadamente mortalidade, e redução de custos relacionados a essas complicações.

8. Bibliografia

- Amstutz, U., Henricks, L. M., Offer, S. M., Barbarino, J., Schellens, J. H. M., Swen, J. J., Klein, T. E., McLeod, H. L., Caudle, K. E., Diasio, R. B., & Schwab, M. (2018). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther*, 103(2), 210-216. <https://doi.org/10.1002/cpt.911>
- Brooks, G. A., Tapp, S., Daly, A. T., Busam, J. A., & Tosteson, A. N. A. (2022). Cost-effectiveness of DPYD Genotyping Prior to Fluoropyrimidine-based Adjuvant Chemotherapy for Colon Cancer. *Clin Colorectal Cancer*, 21(3), e189-e195. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2022.05.001>
- Cortejoso, L., Garcia-Gonzalez, X., Garcia, M. I., Garcia-Alfonso, P., Sanjurjo, M., & Lopez-Fernandez, L. A. (2016). Cost-effectiveness of screening for DPYD polymorphisms to prevent neutropenia in cancer patients treated with fluoropyrimidines. *Pharmacogenomics*, 17(9), 979-984. <https://doi.org/10.2217/pgs-2016-0006>
- Fragoulakis, V., Roncato, R., Fratte, C. D., Ecça, F., Bartsakoulia, M., Innocenti, F., Toffoli, G., Cecchin, E., Patrinos, G. P., & Mitropoulou, C. (2019). Estimating the Effectiveness of DPYD Genotyping in Italian Individuals Suffering from Cancer Based on the Cost of Chemotherapy-Induced Toxicity. *Am J Hum Genet*, 104(6), 1158-1168. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.04.017>
- Froehlich, T. K., Amstutz, U., Aebi, S., Joerger, M., & Larijader, C. R. (2015). Clinical importance of risk variants in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene for the prediction of early-onset fluoropyrimidine toxicity. *Int J Cancer*, 136(3), 730-739. <https://doi.org/10.1002/ijc.29025>
- Garcia-Alfonso, P., Saiz-Rodriguez, M., Mondejar, R., Salazar, J., Paez, D., Borobia, A. M., Safont, M. J., Garcia-Garcia, I., Colomer, R., Garcia-Gonzalez, X., Herrero, M. J., Lopez-Fernandez, L. A., & Abad-Santos, F. (2022). Consensus of experts from the Spanish Pharmacogenetics and Pharmacogenomics Society and the Spanish Society of Medical Oncology for the genotyping of DPYD in cancer patients who are candidates for treatment with fluoropyrimidines. *Clin Transl Oncol*, 24(3), 483-494. <https://doi.org/10.1007/s12094-021-02708-4>
- Guy's & St Thomas' NHS Foundation Trust, E. M. A. (2020). Personalised Medicine Approach For Fluoropyrimidine-based Therapies. *UK chemotherapy board*.
- Henricks, L. M., Lunenburg, C., de Man, F. M., Meulendijks, D., Frederix, G. W. J., Kienhuis, E., Creemers, G. J., Baars, A., Dezentje, V. O., Imholz, A. L. T., Jeurissen, F. J. F., Portielje, J. E. A., Jansen, R. L. H., Hamberg, P., Ten Tije, A. J., Droogendijk, H. J., Koopman, M., Nieboer, P., van de Poel, M. H. W., . . . Schellens, J. H. M. (2019). A cost analysis of upfront DPYD genotype-guided dose individualisation in fluoropyrimidine-based anticancer therapy. *Eur J Cancer*, 107, 60-67. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.11.010>
- Henricks, L. M., Lunenburg, C., de Man, F. M., Meulendijks, D., Frederix, G. W. J., Kienhuis, E., Creemers, G. J., Baars, A., Dezentje, V. O., Imholz, A. L. T., Jeurissen, F. J. F., Portielje, J. E. A., Jansen, R. L. H., Hamberg, P., Ten Tije, A. J., Droogendijk, H. J., Koopman, M., Nieboer, P., van de Poel, M. H. W., . . . Schellens, J. H. M. (2018). DPYD genotype-guided dose individualisation of fluoropyrimidine therapy in patients with cancer: a prospective safety analysis. *Lancet Oncol*, 19(11), 1459-1467. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30686-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30686-7)
- Henricks, L. M., Opdam, F. L., Beijnen, J. H., Cats, A., & Schellens, J. H. M. (2017). DPYD genotype-guided dose individualization to improve patient safety of fluoropyrimidine therapy: call for a drug label update. *Ann Oncol*, 28(12), 2915-2922. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx411>

- Jennings, B. A., Loke, Y. K., Skinner, J., Keane, M., Chu, G. S., Turner, R., Epurescu, D., Barrett, A., & Willis, G. (2013). Evaluating predictive pharmacogenetic signatures of adverse events in colorectal cancer patients treated with fluoropyrimidines. *PLoS One*, 8(10), e78053. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078053>
- Lee, A. M., Shi, Q., Pavey, E., Alberts, S. R., Sargent, D. J., Sinicrope, F. A., Berenberg, J. L., Goldberg, R. M., & Diasio, R. B. (2014). DPYD variants as predictors of 5-fluorouracil toxicity in adjuvant colon cancer treatment (NCCTG N0147). *J Natl Cancer Inst*, 106(12). <https://doi.org/10.1093/jnci/dju298>
- Longley, D. B., Harkin, D. P., & Johnston, P. G. (2003). 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer*, 3(5), 330-338. <https://doi.org/10.1038/nrc1074>
- Lunenburg, C., van der Wouden, C. H., Nijenhuis, M., Crommentuijn-van Rhenen, M. H., de Boer-Veger, N. J., Buunk, A. M., Houwink, E. J. F., Mulder, H., Rongen, G. A., van Schaik, R. H. N., van der Weide, J., Wilffert, B., Deneer, V. H. M., Swen, J. J., & Guchelaar, H. J. (2020). Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene-drug interaction of DPYD and fluoropyrimidines. *Eur J Hum Genet*, 28(4), 508-517. <https://doi.org/10.1038/s41431-019-0540-0>
- Marsh, S., & McLeod, H. L. (2004). Cancer pharmacogenetics. *Br J Cancer*, 90(1), 8-11. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601487>
- Murphy, C., Byrne, S., Ahmed, G., Kenny, A., Gallagher, J., Harvey, H., O'Farrell, E., & Bird, B. (2018). Cost Implications of Reactive Versus Prospective Testing for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency in Patients With Colorectal Cancer: A Single-Institution Experience. *Dose Response*, 16(4), 1559325818803042. <https://doi.org/10.1177/1559325818803042>
- Paulsen, N. H., Pfeiffer, P., Ewertz, M., Fruekilde, P. B. N., Feddersen, S., Holm, H. S., Bergmann, T. K., Qvortrup, C., & Damkier, P. (2023). Implementation and clinical benefit of DPYD genotyping in a Danish cancer population. *ESMO Open*, 8(1), 100782. <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2023.100782>
- Sharma, B. B., Rai, K., Blunt, H., Zhao, W., Tosteson, T. D., & Brooks, G. A. (2021). Pathogenic DPYD Variants and Treatment-Related Mortality in Patients Receiving Fluoropyrimidine Chemotherapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Oncologist*, 26(12), 1008-1016. <https://doi.org/10.1002/onco.13967>
- Toffoli, G., Innocenti, F., Polesel, J., De Mattia, E., Sartor, F., Dalle Fratte, C., Ecça, F., Dreussi, E., Palazzari, E., Guardascione, M., Buonadonna, A., Foltran, L., Garziera, M., Bignucolo, A., Nobili, S., Mini, E., Favaretto, A., Berretta, M., D'Andrea, M., . . . Cecchin, E. (2019). The Genotype for DPYD Risk Variants in Patients With Colorectal Cancer and the Related Toxicity Management Costs in Clinical Practice. *Clin Pharmacol Ther*, 105(4), 994-1002. <https://doi.org/10.1002/cpt.1257>
- Wormann, B., Bokemeyer, C., Burmeister, T., Kohne, C. H., Schwab, M., Arnold, D., Blohmer, J. U., Borner, M., Brucker, S., Cascorbi, I., Decker, T., de Wit, M., Dietz, A., Einsele, H., Eisterer, W., Folprecht, G., Hilbe, W., Hoffmann, J., Knauf, W., . . . Hofheinz, R. D. (2020). Dihydropyrimidine Dehydrogenase Testing prior to Treatment with 5-Fluorouracil, Capecitabine, and Tegafur: A Consensus Paper. *Oncol Res Treat*, 43(11), 628-636. <https://doi.org/10.1159/000510258>
- CTCAE. Common terminology criteria for adverse events v5.0. U.S. Department of Health and Human Services, 2017 [23 de Agosto 2023]. Available from: https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/ctcae_v5_quick_reference_5x7.pdf
- Portaria n.º 254/2018 de 7 de setembro, publicada em Diário da República, 1.ª série — N.º 173 — 7 de setembro de 2018 [23 de Agosto 2023]. Disponível em: <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/portaria/254-2018-116353279>