



HAL
open science

Utilisation des variations pharmacogénétiques issues du séquençage haut débit pangénomique

Simon Verdez

► **To cite this version:**

Simon Verdez. Utilisation des variations pharmacogénétiques issues du séquençage haut débit pangénomique. Médecine humaine et pathologie. Université Bourgogne Franche-Comté, 2023. Français. NNT : 2023UBFCJ001 . tel-04645987

HAL Id: tel-04645987

<https://theses.hal.science/tel-04645987v1>

Submitted on 12 Jul 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE DOCTORAT DE L'ETABLISSEMENT UNIVERSITE BOURGOGNE FRANCHE-COMTE

PREPAREE A l'unité INSERM 1231 - Équipe GAD

Ecole doctorale n° 554
« Environnements-Santé »

Doctorat de Génétique

Par

Mr Verdez Simon

**Utilisation des variations pharmacogénétiques issues du séquençage haut débit
pangénomique**

Thèse présentée et soutenue à Dijon, le 04/09/2023

Composition du Jury :

Pr Verstuyft Céline	PU-PH, Université de Paris	Présidente
Pr Lorient Marie-Anne	PU-PH, Université de Paris	Rapporteuse
Pr Ciccolini Joseph	PU-PH, Université de Marseille	Rapporteur
Mr Duffourd Yannis	Ingénieur, Université de Bourgogne Franche-Comté	Invité
Pr Callier Patrick	PU-PH, Université de Bourgogne Franche-Comté	Directeur de thèse
Pr Picard Nicolas	PU-PH, Université de Limoges	Codirecteur de thèse

Titre : Utilisation des variations pharmacogénétiques issues du séquençage haut débit pangénomique

Mots clés : Pharmacogénétique, Bioinformatique, Séquençage haut débit pangénomique

Résumé : La pharmacogénétique s'intéresse aux variations génétiques constitutionnelles susceptibles de modifier les caractéristiques pharmacocinétiques ou pharmacodynamiques des médicaments. Elle permet de détecter les individus pouvant présenter des anomalies de réponse à ces médicaments et d'adapter leur prise en charge médicamenteuse. Les technologies de séquençage haut débit pangénomique ont pris une place importante dans le diagnostic génétique. Afin d'envisager d'exploiter les données pharmacogénétiques issues du séquençage haut débit pangénomique dans un cadre thérapeutique, il convient de déterminer quelles sont les variations pouvant améliorer la prise en charge des individus et de connaître l'avis des cliniciens pouvant utiliser ces données.

Ce travail de thèse fut mené en 3 parties.

La première partie est une étude rétrospective visant à extraire les données pharmacogénétiques en lien avec les traitements antiépileptiques. Ces 90 patients ont bénéficié d'un séquençage d'exome dans un contexte d'épilepsie syndromique. La seconde étude rétrospective se concentre sur les variations pharmacogénétiques chez 445 patients ayant bénéficié d'un séquençage d'exome dans le cadre de la prise en charge de leur cancer solide. Un questionnaire sur les expériences, la perception, l'attitude et les connaissances des professionnels de santé vis-à-vis des données pharmacogénétique.

A partir de la cohorte de 90 patients avec épilepsie syndromique, nous avons extrait 1717 variations et déterminé 360 allèles. Seul le couple CYP2C9 / phénytoïne fut retenue après analyse des dossiers médicaux. Au sein de notre cohorte, 18 patients ont reçu un traitement par phénytoïne durant leurs hospitalisations. Sur ces 18 patients, 4 sont porteurs d'une variation de niveau 1 selon la classification PharmGKB. Ces 4 porteurs ont présenté au moins un épisode de surexposition à la phénytoïne.

A partir des données génétiques de la cohorte de 445 patients avec cancers solides et des traitements notifiés dans les dossiers médicaux, sélectionné 4 combinaisons gène-médicaments. Les 6 patients porteurs d'une variation de niveau 1 pour le gène *DPYD* ont présenté une clairance diminuée en 5FU. Le statut métaboliseur vis-à-vis du *CYP2D6* fut déterminé pour nos 445 patients. Nous avons constitué un groupe de métaboliseurs ultra-rapides, un groupe de métaboliseurs lents et un groupe de métaboliseurs normaux. En comparant les groupes nous avons observé une différence significative pour les patients recevant des opioïdes. Mais les différences n'étaient pas significatives pour les patients ayant reçu un traitement par ondansétron et par tamoxifène.

Au sein de nos répondeurs, 90.4 % (n=314) pensent que les tests PGx pourraient être un outil pour optimiser les traitements des patients dans le futur. Une large majorité des répondeurs (90.4%, n=262) sont favorables à l'incorporation des recommandations PGx dans le système de soin. Dans le cadre du PFMG, 63.0 % (n=335) pensent que l'information PGx devrait être communiquée avec les résultats de l'analyse primaire si ces informations peuvent influencer les prescriptions. Seulement 9.7 % des répondants ont atteint le score maximal du test sur les connaissances. Dans notre modèle de régression linéaire, les médecins ont un score moins élevé comparativement aux pharmaciens (odds ratio : 0.081, p<0.001).

Les barrières techniques liées à l'utilisation des variations pharmacogénétiques issues du séquençage d'exome ne sont plus valables. Les professionnels de santé ont montré un fort enthousiasme dans l'utilisation de ces variations. L'impact médicale important de certaines variations pharmacogénétiques dans la prise en charge médicale. L'ensemble de ces arguments tend vers la diffusion des variants secondaires issues du séquençage d'exome.

Title : Use of pharmacogenetics variations from exome sequencing

Keywords : Pharmacogenetics, Bioinformatics, Exome Sequencing

Abstract : Pharmacogenetics focuses on the consequences of constitutional genetic variations that may alter the pharmacokinetic or pharmacodynamics of drugs. Characterization of predictors of drug response aims both to improve treatment management and to reduce hospitalization costs related to adverse effects or treatment inefficiency. Exome sequencing had taken an important place in genetic diagnosis by providing access to many variations. In order to exploit them for in a therapeutic framework, it is necessary to determine what are the variations resulting from exome sequencing analyses that can improve the patient care and define analytical modalities. We also want to know the attitude of clinician towards this information.

This work was split in three parts.

We conducted a retrospectives study on a cohort of 90 epileptic patients who had a previous exome sequencing (ES) to determine the impact of pharmacogenetics variants of interest. We evaluate the interest of pharmacogenetic information in a cohort of 445 solid cancer patients with aggressive diseases or relapses, who previously benefited from exome sequencing (ES) for therapeutic issues. We designed a questionnaire to physicians and pharmacists asking them the experiences, attitudes, expectations and knowledge of health actors towards pharmacogenetics.

We extracted 1717 substitution variants described in PharmGKB, 7 Copy Number Variations involving 31 genes of interest and determined 360 alleles for HLA groups. *CYP2C9* status for phenytoin's prescription was the only relevant information. 18/90 patients were treated by phenytoin in our cohort. All patients carrying one PharmGKB level one variants, had a episode of overexposition to phenytoin.

Four gene-drug pairs were analyzed: *DPYD/5FU*, *CYP2D6/opioids*, *CYP2D6/Tamoxifen* and *CYP2D6/Ondansetron*. Six patients treated with 5-fluorouracil and carrying one level 1A PharmGKB variant in *DPYD* showed a decreased drug mean clearance compared to non-carriers. All patients (n=5) with *CYP2D6* poor or ultra-metabolizers status, experienced ADRs related to opioid therapy. Analysis of proportion between patients carrying one level 1A PharmGKB allele for *CYP2D6* and non-carriers for the last two drugs (Tamoxifen and Ondansetron), did not reveal a statistical difference with the risk of ADRs.

Among our respondents, 90.4% (n=314) believe that PGx testing could be a tool to optimize patient treatments in the future. A large majority of respondents (90.4%, n=262) are in favor of incorporating PGx recommendations into the healthcare system. In the framework of the PFMG, 63.0% (n=335) think that PGx information should be communicated with the results of the primary analysis if this information can influence prescriptions. Only 9.7% of respondents reached the maximum knowledge test score. In our linear regression model, doctors have a lower score compared to pharmacists (odd ratio: 0.081, p<0.001).

During this work we removed technical barriers and medical barriers to the implementation of secondary pharmacogenetic data provided by exome sequencing. Pharmacogenetic information can be extracted with exome sequencing. Health professionals support the use of this data in the context of care. This information provides by exome sequencing improve health care delivery. All these arguments show that exomic variants provided by exome sequencing should be transmitted to the physicians.

Remerciements

Cette thèse a été réalisée à l'Université de Bourgogne Franche-Comté au Laboratoire de Génétique des Anomalies du Développement (GAD) à Dijon. Merci aux membres de l'équipe de m'avoir permis à cette thèse d'avoir lieu.

Professeur Nicolas Picard

Qui a encadré et dirigé ce travail de thèse. Merci pour ton encadrement tout au long de cette thèse, tes conseils, tes connaissances, ta disponibilité, ton soutien, ta sympathie et surtout ta confiance dès le début... à la fin de mon internat en pharmacie. Trouve ici l'expression de mon estime et de ma sympathie.

Professeur Thauvin Christel

Qui a dirigé notre groupe de recherche au laboratoire et suivi la progression de ce travail. Merci pour tes conseils, ton accessibilité, ta rigueur, ta vision et pour m'avoir permis d'évoluer professionnellement. Trouve ici l'expression de ma gratitude et de mon plus profond respect.

Yannis Duffourd

Merci de m'avoir accueilli dans l'équipe de bioinformaticien durant ces cinq années où j'ai beaucoup appris. Merci de m'avoir suivi durant l'ensemble de cette thèse, avec des hauts et des bas. Tu trouveras ici ma profonde reconnaissance.

Professeur Callier Patrick

Merci de m'avoir fait d'être mon directeur de thèse, et de m'apporter tes conseils et ton expérience. J'étais loin d'imaginer, près de 7 ans après notre première rencontre dans ton bureau où j'étais un jeune interne en pharmacie, que tu serais encore présent pour juger de mon travail de recherche.

Professeur Faivre Laurence

Merci de m'avoir accueillie au sein de l'équipe GAD et d'avoir accepté de diriger mes travaux. Merci d'avoir permis à cette thèse d'avoir lieu dans les meilleures conditions. Merci pour tes conseils avisés, ta disponibilité et tes encouragements auprès des patients.

Professeur Marie-Anne Lorient

Professeur Joseph Ciccolini

Merci pour le temps consacré à examiner ce travail et de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être rapporteurs de ce manuscrit de thèse et de siéger dans ce jury.

Professeur Céline Verstuyft

Merci de m'avoir fait l'honneur de siéger dans ce jury de thèse en tant que présidente. Merci pour tes connaissances sur la pharmacogénétique, la médecine personnalisée et sur la médecine de précision. Merci aussi pour tes conseils et ta sympathie, notamment durant le DU de médecine de médecine personnalisée et pharmacogénomique.

A toutes les personnes qui ont contribué à ce travail et sans qui il n'aurait pas été possible

Docteur Juliette Albuison, merci d'avoir permis la réalisation de mon deuxième article dans votre service et d'avoir été enthousiaste dès les premiers instants de ce projet.

Docteur Pascal Guerard, merci de m'avoir accueilli dans votre laboratoire de pharmacologie durant 6 mois et d'avoir permis le développement du criblage allélique du gène *TPMT*, premier test pharmacogénétique au CHU de Dijon.

Merci à toute l'équipe biologiste du GAD, je voudrais remercier Christophe Philippe, Anne-Sophie Denommé Pichon, Frederic Tran Mau Them. Antonio Vitobello, Hana Safraou, Ange-Line Bruel avec qui j'ai eu le plaisir de travailler.

Merci à toute l'équipe bioinformatique du GAD, je voudrais remercier Emilie Tisserant, Philippine Garret pour leur aide précieuse dans la compréhension du CCUB.

Merci à toute l'équipe technicien du GAD, Martin, Charlotte, Valentin, Victor et Sylvie pour leur aide précieuse.

Un immense merci à mes proches :

À mes amis, la bobygoulfteam, les colocs, les co-internes et autres généticiens pour ces bons moments passés au bar. À Bastian pour ses repas durant toutes ces années, de m'avoir encadré sur un projet d'Intelligence Artificielle ! Merci d'avoir été présent dans les meilleurs moments et les plus difficiles.

À mes oncles, mes tantes, mes cousins, mes cousines, pour leur intérêt feint dans mes sujets de pharmacie.

À mes frères pour leurs encouragements et leur soutien indéfectible.

À mes parents pour avoir toujours été là pour moi, pour m'avoir écoutée parler pendant toutes ces années et pour m'avoir supportée !

À ma chérie Cynthia qui va partager ma vie prochainement, j'espère qu'elle supportera mon caractère chaque jour.

Enfin un grand merci à ceux tous ceux qui ont été présents durant ces années.

Abréviations

ADME : absorption, distribution, métabolisme et élimination

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

ARNm : Acide RiboNucléique messenger

CNRGH : Centre National de Recherche en Génomique Humaine

CNV : Copy Number Variation

CPIC : Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium

CPNDS : Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety

CYP : Cytochrome

DPD : dihydropyrimidine deshydrogenase

DPWG : Dutch Pharmacogenetics Working Group

FDA : Food and Drug Administration

dNTP : désoxyriboNucléoside TriPhosphate

EI : effet indésirable

EMA : European Medicines Agency

ES : Séquençage d'exome

ESHG : European Society of Human Genetics

G6PD : Glucose 6 Phosphate deshydrogénase

GATK : Genome Analysis ToolKit

GS : Séquençage de génome

HLA : Human Leucocyte Antigen

IGNITE : Institutes of Health initiated the Implementing Genomics in Practice

Indel : insertions ou délétions de petite taille

Kb : kilobases

JOBIM : Journées Ouvertes en Biologie, Informatique et Mathématiques

NIH : National Human Genome Research Institute and the National Institutes of Health

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : Polymerase chain reaction

PFMG : Plan France Médecine Génomique 2025

PharmGKB : PharmacoGenomics Knowledge Base

PREPARE : PREemptive Pharmacogenomic testing for prevention of Adverse drug Reactions

RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit

RNPGx : Réseaux Francophone de Pharmacogénétique

SFPT : Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

SNV : Single Nucleotide Variant

STP : Suivi Thérapeutique Patient

USA: United States of America

VCF : Variant Call Format

VIPs : Very Important Pharmacogenes

Liste des Figures

Figure 1 : Principe du séquençage Illumina

Figure 2 : Polymorphisme du CYP2D6 au sein de l'espèce humaine

Figure 3 : Facteurs génétiques et facteurs non-génétiques affectant la réponse aux médicaments

Figure 4 : Classification des variants dans la base de données PharmGKB

Figure 5 : Influence du génome dans la réponse médicamenteuse avec l'exemple du génotypage du CYP2D6

Figure 6 : Détermination des statuts métaboliseur en normalisant les scores d'activité retrouvés

Figure 7 : Freins majeurs dans la mise en place de la pharmacogénétique

Figure 8 : Principales étapes d'un pipeline bioinformatique détectant les variations génomiques constitutionnelles

Table des matières

Table des matières

Introduction	1
Le Plan France Médecine Génomique (PFMG)	1
Les technologies de séquençage de deuxième génération	3
Données additionnelles	4
Pharmacogénétique	6
Origines de la Pharmacogénétique	6
Facteurs influençant la réponse médicamenteuse	8
Influence du génome dans la réponse médicamenteuse	9
Accessibilité de l'information PGx	10
The human Cytochrome P450 Allele Nomenclature Website	10
The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium	10
The Dutch Pharmacogenetics Working Group	11
Le réseau francophone de pharmacogénétique	11
La base de données PharmGKB	11
Conversion Génotype-Phénotype	12
Freins au développement de la PGx	15
Projets en PGx	16
Implementing GeNomics In pracTice (IGNITE)	16
PREemptive Pharmacogenomic testing for prevention of Adverse drug REactions (PREPARE)	17
Utilisation du séquençage haut débit de seconde génération appliqué à la Pharmacogénétique	18
Panel ciblé de gènes	18
Pangénomique	19
Gestion des données secondaires en pharmacogénétique	21
Objectifs du travail de thèse	22
Méthodes	23
Analyse bioinformatique	23
Article 1 : Exome sequencing allows detection of relevant pharmacogenetic variants in epileptic patients.	26
Résumé de l'article	27
Discussion - perspectives	29
Article 2: Detection of relevant pharmacogenetic information through exome sequencing in oncology	51
Résumé de l'article	52
Discussion - perspectives	55
DPYD et 5FU	55
CYP2D6 et Opioides	56

Table des matières

<i>CYP2D6</i> et antagoniste du 5-HT3 (sétrons)	56
<i>CYP2D6</i> et tamoxifène	57
Perspectives	57
Article 3: Experience and expectations of pharmacogenetic tests in France.	112
Résumé de l'article	113
Discussion - perspectives	115
Discussion & Perspectives	156
Bibliographie	163
Communications	181
Articles faisant l'objet de cette thèse	181
Articles annexes	181
Communications orales	182
Posters	182
Resources web	183

Introduction

Introduction

Le Plan France Médecine Génomique (PFMG)

Le PFMG répond à une demande du premier ministre Manuel Vals en 2016 et fut confié au Pr Yves Lévy (PDG de l'Inserm en 2016 et président de l'Alliance nationale pour les sciences de la vie et de la santé : Aviesan). Ensuite repris par Édouard Philippe lors du discours du 17 juillet 2017, ce plan ambitieux a pour mission de développer la médecine génomique en France avec la création de plusieurs plateformes de séquençage haut débit sur le territoire. En 2020, deux plateformes sont opérationnelles, la première localisée à Paris (SEQOIA) couvre la partie Nord et Nord-Ouest et la seconde localisée à Lyon (AURAGEN) couvre la partie Sud, Sud-Ouest et l'Est de la France. Le but initial était de proposer, en routine, un séquençage génomique aux patients atteints de maladies rares, de cancers et aussi de maladies dites communes comme le diabète.

Le rapport Yves Lévy montre 4 enjeux majeurs :

Le premier est un enjeu de santé publique avec la révolution du parcours de soin et donc l'organisation de la santé publique, avec une augmentation du nombre de patients affectés par des maladies rares ou des cancers susceptibles de bénéficier d'une prise en charge diagnostique et thérapeutique personnalisée.

Le second est un enjeu scientifique et clinique, allant du renforcement de l'exploration moléculaire jusqu'au bénéfice thérapeutique du patient. D'autres problèmes d'ordre informatique seront aussi abordés, comme la création de bases de données hétérogènes.

Le troisième enjeu est technologique avec la convergence des sciences et technologies issues du monde de l'information et de la communication avec celles des sciences de la vie et de la santé. De nouvelles compétences dans l'acquisition, le stockage, la distribution, l'interprétation des données seront développées.

Le quatrième est économique, en termes de coût pour le système de santé mais également dans le développement de filières industrielles. Les retombées se situent sur la diminution du nombre de bilans inadaptés, imprécis et onéreux, la réduction des délais d'analyse, la suppression ou la limitation des médicaments inutiles, l'élimination de certains effets indésirables handicapants, le gain d'années de vie.

Trois objectifs découlent de ces enjeux :

Introduction

Le premier vise à placer la France en tête des pays engagés dans la médecine de précision.

Le second est l'intégration de la médecine génomique dans le parcours de soin et la prise en charge des pathologies communes, avec l'instauration d'un parcours de soins génériques accessible à tous les patients touchés par une des pathologies visées par le plan.

Le troisième est la création d'une dynamique autour de la médecine génomique avec la création d'une filière nationale de médecine génomique capable d'être un levier dans l'innovation scientifique et technologique.

Pour la suite, le PFMG prévoit d'une part le déploiement de douze plateformes couvrant l'ensemble du territoire français et d'autre part, la création d'un Collecteur Analyseur de Données (CAD) qui centralisera et traitera l'ensemble des données issues de ces plateformes. La création d'un Centre de Référence d'Innovation et d'expertise (CReFIX) est également prévue. Il sera chargé d'intégrer les innovations technologiques du programme et de développer les règles d'harmonisation au sein du programme avant la mise en production.

Le PFMG est par ailleurs associé à quatre projets pilotes, les trois premiers étant adossés à une indication du PFMG. Le projet MULTIPLI pour le cancer, le projet DEFIDIAG pour les maladies rares, le projet GLUCOGEN pour le diabète. Le dernier, POPGEN, étudie la population générale et la variabilité génétique au sein de cette population.

De plus, d'autres initiatives sont mises en place au sein du PFMG :

- La mise en place de nouvelles pré-indications : les 3 indications initiales sont ainsi découpées en plusieurs pré-indications avec une mise à jour régulière effectuée par l'HAS (78 en novembre 2022).

- L'organisation d'une offre de formation au sein du territoire français sous l'égide de la Conférence des Présidents d'Université.

- L'intégration des dimensions éthiques liées à la collecte, la conservation et le traitement des données cliniques et génomiques, et pour garantir un parcours sécurisé et de qualité (en organisant l'information, la consultation et l'implication des acteurs concernés).

L'ensemble de ces travaux sont réalisés par des groupes réunissant experts et acteurs du pouvoir publique.

Introduction

Les technologies de séquençage de deuxième génération

Le PFMG s'inscrit dans un contexte de profond bouleversement des techniques de génomique. Le séquençage par la méthode historique de Sanger, limité à des applications bas-débit est progressivement détrônée par des techniques à haut-débit qui permettent le séquençage massif et parallèle de tout ou d'une partie du génome. Ces techniques, de seconde génération, sont également qualifiées de "next-generation".

Les technologies de séquençage dites de "deuxième génération" correspondent à un séquençage haut débit par synthèse à l'aide de terminateurs réversibles. Ce mode de séquençage a été développé au début des années 2000 par Shankar Balasubramanian, David Klenerman et Pascal Mayer (Breakthrough Prize - Winners 2022). Cette technologie, utilisée par la société Illumina, est dominante dans le séquençage haut débit, avec 90% de part de marché en 2019. Les 10% restant sont détenus par la société ThermoFischer avec la technologie IonTorrent.

La première étape est la fragmentation de l'ADN en morceaux de 250 paire de bases puis leur amplification par bridge PCR sur flow-cell (Figure 1). L'étape de séquençage est réalisée sur le support d'amplification avec la formation de clusters constitués de fragments d'ADN simple brin. Ensuite interviennent des dNTP fluorescents appelés terminateurs réversibles, la liaison 3'OH est substituée par un fluorophore et chaque fluorophore est associée à une fluorescence. Lors de l'incorporation du dNTP suivant, il existe une inhibition due à la présence du fluorophore, le clivage enzymatique et l'excitation par un laser permettent l'émission de la fluorescence. Cette fluorescence est captée par une caméra qui convertit le signal optique en données informatiques. Ainsi, chaque base est déterminée en fonction de la longueur d'onde émise. Pour répéter cette opération, chaque flow-cell est lavée puis le cycle est de nouveau enclenché. Avec cette méthode, le taux d'erreur de séquençage dépend de la longueur des lectures produites mais avoisine les 0,1%. Deux mécanismes expliquent les erreurs de séquençage, ces mécanismes conduisent à la perte de synchronisation entre les clusters entraînant un décalage dans la détermination des bases : le « phasing » est la production d'un nucléotide en avance et le « pré-phasing » est un retard causé par une étape de lavage défectueuse. L'hypothèse principalement avancée expliquant que cette variabilité du taux d'erreur soit fonction de la longueur des lectures, est la perte d'efficacité lors des lavages successifs. Deux autres explications sont possibles : la polymérase pourrait être de moins en moins performante au fil de l'élongation et enfin les caméras pourraient peiner à différencier les fluorescences successives. Pour des valeurs de 0,10/0,10 on estime que 20 % des nucléotides sont perdus car en décalage (10 % trop tôt et 10 % trop tard) avec les cycles lors de l'acquisition. Pour pallier ces erreurs, une étape appelée « empiral phasing correction

Introduction

» est incorporée avec le calcul du pré-phasing et du phasing à chaque cycle. Sans cette étape, les valeurs seraient calculées pour les 12 premiers cycles en assumant que la variabilité suit un modèle linéaire.

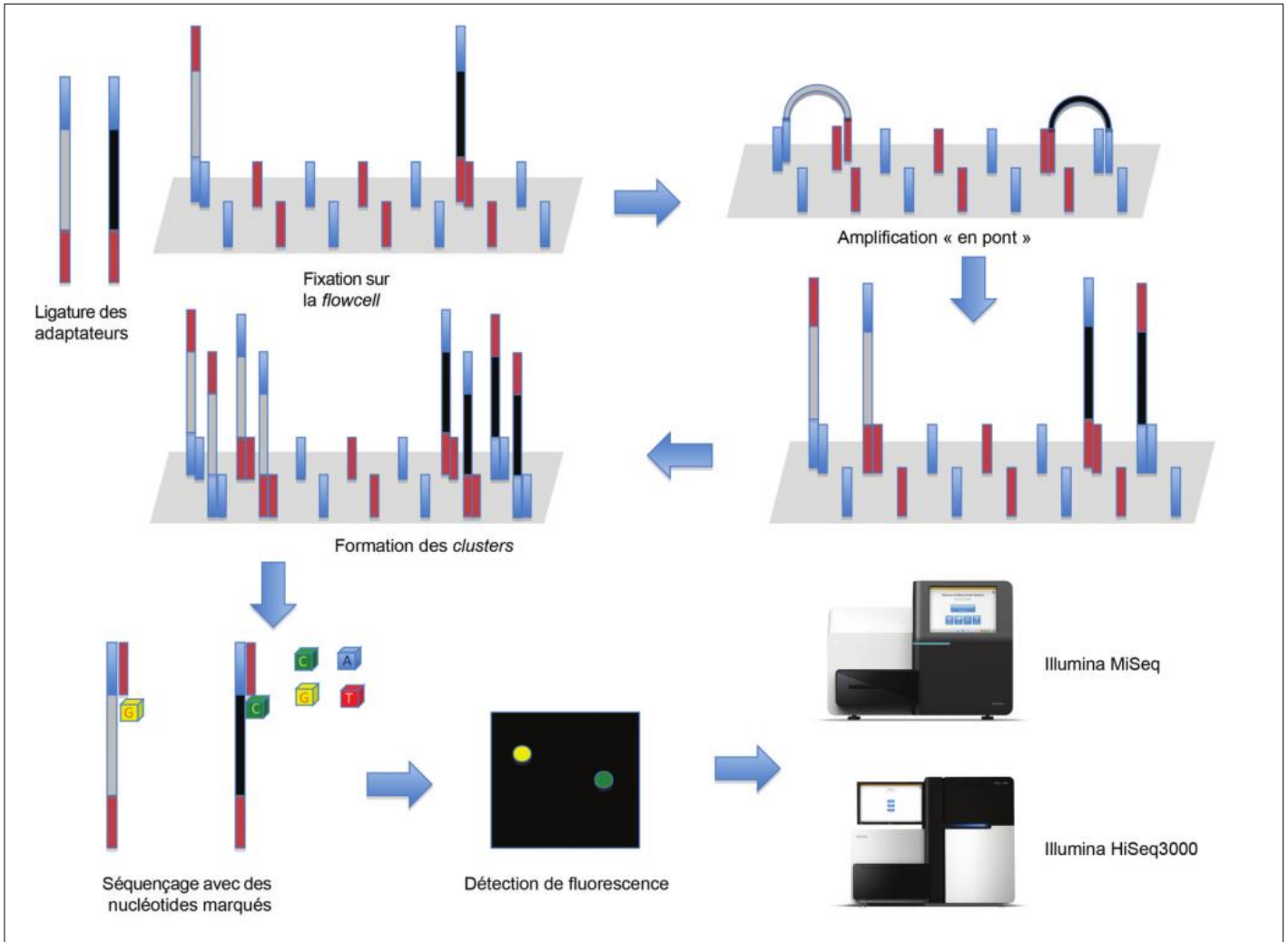


Figure 1 : Principe du séquençage Illumina. D'après (Bonnin et al., 2017)

Le séquençage IonTorrent possède la particularité de détecter les variations de pH. Cette technologie possède la particularité de ne pas produire de signaux optiques et donc de s'affranchir d'une caméra, étape limitante du séquençage Illumina. Cependant, le débit des séquenceurs IonTorrent reste inférieur à celui des séquenceurs Illumina (20000 millions de lectures pour un Novaseq Illumina contre 80 millions pour un S5 IonTorrent). Aujourd'hui, ces séquenceurs sont encore utilisés dans certains hôpitaux pour ses temps d'analyse très courts (3 jours pour le Novaseq Illumina contre 2-4 heures pour le S5 IonTorrent).

Données additionnelles

Introduction

L'utilisation de techniques rendant accessible de très large partie du génome voire son intégralité pose des questions éthiques : que faire si au décours de l'analyse d'un gène, une information sensible est disponible à proximité ?

L'agence de Biomédecine définit la notion de « données additionnelles » ainsi : « Un résultat sans relation directe avec l'indication initiale ». Ces données peuvent être de deux natures différentes : incidentes ou secondaires.

La différence entre une donnée incidente et secondaire découle de l'intention ou non de rechercher la donnée de manière active : contrairement aux données incidentes, les données secondaires sont recherchées activement en se référant à une liste de gènes qualifiés « d'actionnables ». Le bénéfice de ce type de recherche, selon l'agence de la Biomédecine, est la mise en place d'un dépistage généralisé au sein de la population générale. Durant la suite de nos travaux, nous n'utiliserons pas cette séparation car l'utilisation des bases de données de pharmacogénétique cliniques, oblige « de facto », au rendu de résultats en fonction de gènes (et de variants) appartenant à des listes connues. Dans ses conclusions, l'agence de Biomédecine préconise le filtre de ces données par des méthodes bioinformatiques.

Si nous recentrons la question de l'utilisation des données additionnelles sur le patient, les avis ne sont pas tranchés. Une étude française montre que 52 % (11/21) des participants sont en défaveur du rendu des données additionnelles (Houdayer et al., 2019). Lors de cette étude, 80 % des familles en errance diagnostique étaient favorables aux données additionnelles alors que 25 % des personnes avec une histoire familiale ne l'étaient pas. Une autre étude française montre que les familles en errance diagnostique sont pour un rendu exhaustif des données issues du génome ou de l'exome si elles sont interrogées avant l'examen (Chassagne et al., 2019). Cependant, à la suite du rendu des résultats, les familles ne tiennent plus compte de ces données. Ces résultats montrent que les conséquences psychologiques des examens génétiques ont un impact bien supérieur à celui des données secondaires.

Le sujet de l'utilisation des données secondaires est aussi étudié et débattu en dehors de nos frontières. L'ESHG a publié en 2015 des recommandations sur le sujet en préconisant le non-rendu de cette information (Hehir-Kwa et al., 2015). A contrario, l'ACMG a émis une liste de gènes actionnables en 2013 (Green et al., 2013, p. 20) et l'a réactualisée en 2017 (Kalia et al., 2017) puis 2021 (Miller et al., 2021). L'avantage d'avoir une liste actionnable est de pouvoir contrôler l'information rendue et d'être en mesure de proposer une solution aux patients, sous la forme d'un traitement ou d'une surveillance. Cependant, la généralisation du recours à cette liste dans le cadre de séquençage massif n'est pas autorisée et son utilisation est aujourd'hui cantonnée

Introduction

au séquençage dans un cadre diagnostique par la loi Health Insurance Portability and Accountability Act (ACMG Board of Directors, 2019).

Pharmacogénétique

La pharmacogénétique, discipline rattachée à la personnalisation des traitements médicamenteux sur la base de l'information génomique, bien que ne faisant pas partie au sens strict du PFMG, est au cœur des préoccupations puisque de nombreuses données secondaires rattachées aux traitements de maladies peuvent être générées par NGS. L'académie nationale de médecine a défini les deux termes pharmacogénétique et pharmacogénomique ainsi : "La pharmacogénétique étudie l'influence du patrimoine génétique sur le sort des médicaments alors que la pharmacogénomique a pour objet l'étude des effets des médicaments sur le génome humain." Cependant, il est fréquent que les deux termes soient utilisés indistinctement selon cette même académie. Le terme pharmacogénomique est beaucoup utilisé en oncologie pour désigner les thérapies ciblées en lien avec les variations somatiques.

Origines de la Pharmacogénétique

Les origines les plus lointaines connues de l'étude de la variation individuelle de la réponse à un composé exogène, remonte au cinquième siècle avant J.C : le mathématicien et philosophe Pythagore avait détecté un aliment (les fèves) pouvant provoquer une réaction anormale chez certains individus. Il énonça « ce qui peut être nourriture pour certains, peut être poison violent pour d'autres ». Plus tard, cette même réaction inattendue de certains fut constatée lors d'administration de primaquine. La nature du déficit enzymatique d'origine génétique associé à ces réactions fut découvert à la fin des années 1950 : l'intolérance aux fèves (dénommé favisme) et à la primaquine est causée par un déficit de fonction de la Glucose-6-phosphate déshydrogénase (Cappellini & Fiorelli, 2008).

Les premières descriptions scientifiques de la variabilité d'origine génétique furent effectuées à Londres par le Dr Sir Archibald E Garrod. En étudiant les pathologies liées aux déséquilibres métaboliques, il fait l'hypothèse de l'hérédité de certaines de ces maladies. En 1902, Sir Archibald E Garrod publie ses hypothèses et énonce le concept d'« individualité chimique ». En 1957 fut exploré par Werner Kalow l'activité estérase de 5 individus, dont 1 individu montrant une activité plus faible sur 11 mois. Les 4 autres individus

Introduction

montrant une activité élevée et aussi constante sur cette même période. Le concept d'individualité était ancré dans la biologie moderne, avec des activités enzymatiques propres à chaque individu.

Un autre exemple connu de variabilité interindividuelle fut décrit lors des premières administrations d'isoniazide en 1952. Un effet indésirable fréquent est la neuropathie périphérique à la suite de l'accumulation de métabolites intermédiaires dans l'organisme. Dans les années 1970, des travaux sur la débrisoquine (un anti-hypertenseur) permettent de mettre en évidence une hydroxylation variable selon les individus. Selon ces travaux, un pourcentage faible de la population possède une déficience dans le métabolisme de cette molécule. Lors de l'exploration des voies métaboliques de la débrisoquine, un gène, le *CYP2D6* est pointé par l'équipe du professeur Robert L. Smith (Mahgoub et al., 1977). A ce jour, le *CYP2D6* est connu pour avoir un important polymorphisme avec une centaine d'allèles répertoriés expliquant la variabilité des réponses observées au siècle dernier. Au fil des années, les différents remaniements intervenant au niveau du locus ont été mis à jour (Figure 3). L'utilisation du séquençage de nouvelle génération apparaît incontournable pour obtenir une information complète et fiable concernant ce pharmacogène.

Introduction

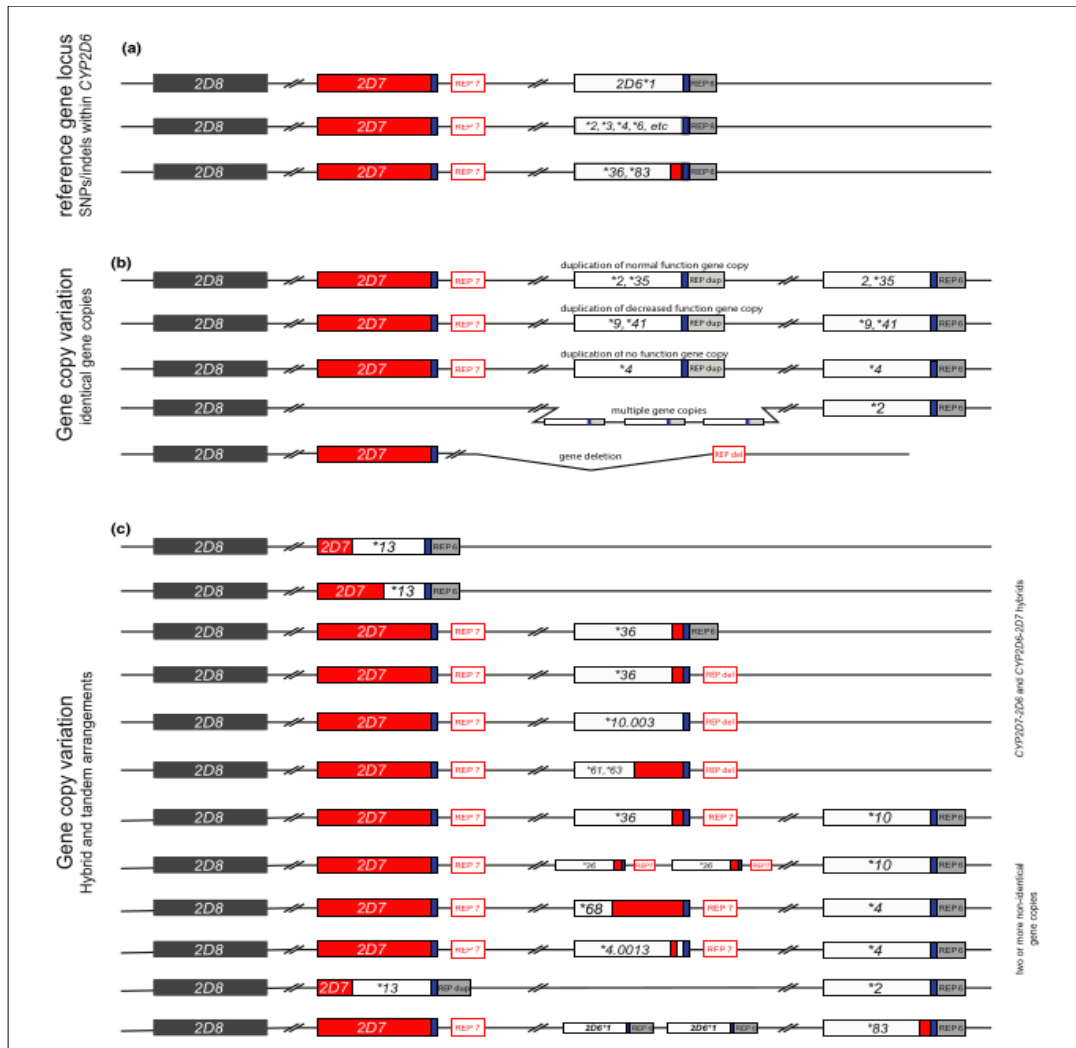


Figure 2 : Polymorphisme du CYP2D6 au sein de l'espèce humaine. D'après (Nofziger et al., 2020)

Facteurs influençant la réponse médicamenteuse

La prédiction de la réponse à un médicament reste un défi pour le médecin et pour le pharmacien. Cette réponse est dépendante de plusieurs facteurs d'origine endogène et/ou exogène. Les erreurs médicamenteuses ou de diagnostic sont aussi susceptibles d'influencer cette réponse (Aronson, 2009). Les facteurs exogènes reconnus comme pouvant affecter la réponse aux médicaments sont la co-médication (Niedrig et al., 2016), l'alimentation, le tabagisme (Zevin & Benowitz, 1999), le microbiome (Clayton et al., 2009) et l'observance (Col, 1990). Les facteurs endogènes les plus fréquemment retrouvés sont l'âge, le sexe, l'état de fonction des organes (rein et foie en particulier), l'origine ethnique et l'effet placebo (ou nocebo). Pour rajouter de la

Introduction

complexité au modèle, ces facteurs peuvent interagir entre eux et influencer de manière différente la réponse aux médicaments. (Figure 3)

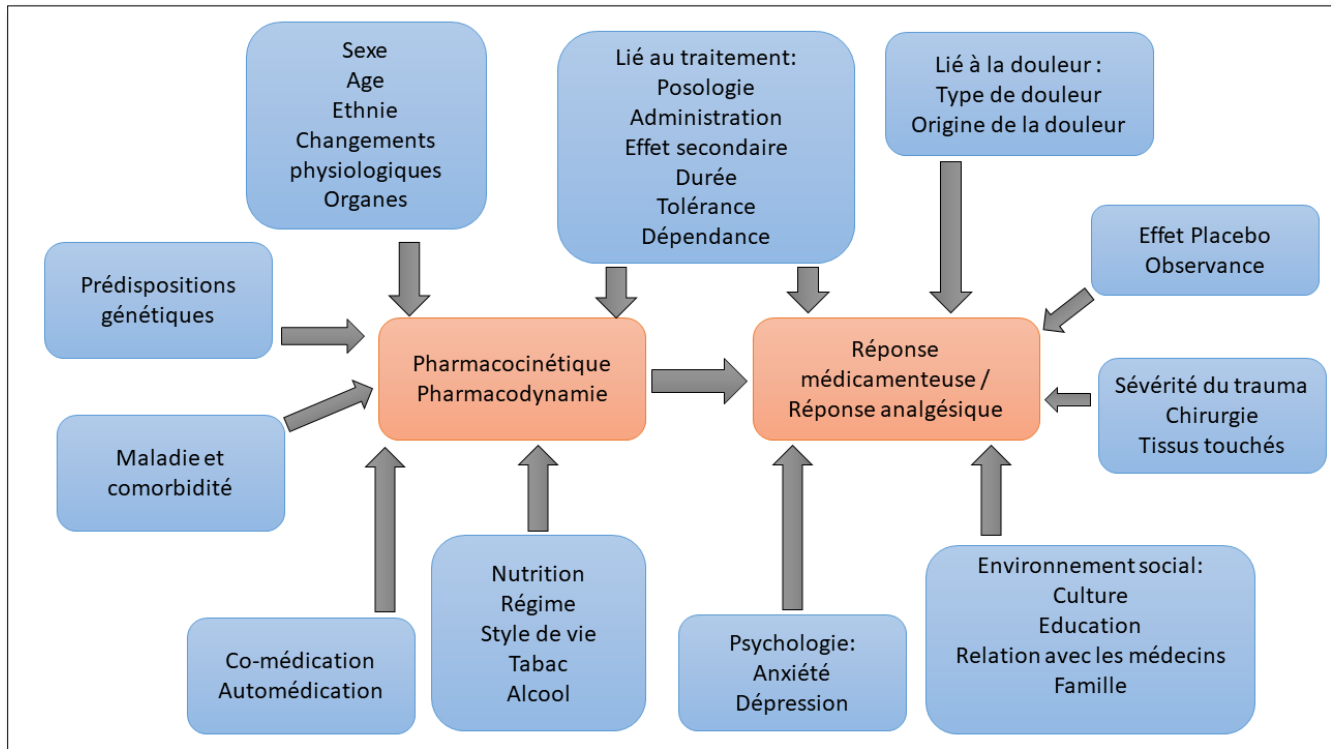


Figure 3 : Facteurs génétiques et facteurs non-génétiques affectant la réponse aux médicaments. Traduit et adapté d'après (Kapur et al., 2014)

Influence du génome dans la réponse médicamenteuse

Sur un plan pharmacocinétique, la réponse médicamenteuse est attendue quand la substance se lie à la bonne cible et quand la concentration plasmatique est comprise dans la marge thérapeutique. La marge thérapeutique étant un intervalle de concentration délimitée par la concentration minimale efficace et la concentration maximale tolérée de la substance active. Les protéines influençant le métabolisme ou le transport membranaire d'un principe actif sont impliquées dans l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination (ADME) de ce dernier. La séquence en acides aminés de ces protéines est issue du code génétique individuel et les variations portées par les génomes des individus peuvent conduire à des concentrations plasmatiques ou à des cinétiques d'élimination différentes. D'un point de vue pharmacodynamique, les variations du génome peuvent modifier la structure ou affecter l'expression de la cible du médicament. Ces cibles peuvent être un récepteur membranaire ou nucléaire, une protéine effectrice ou une enzyme. Des mécanismes biologiques sous-jacents à la génétique comme l'épissage ou la maturation

Introduction

protéique peuvent être mis en cause dans la variabilité de la réponse médicamenteuse, mais la génétique est encore aujourd'hui considérée comme le paramètre déterminant (Alexanderson et al., 1969; Stage et al., 2015). L'utilisation de la génétique dans la prédiction de la réponse médicamenteuse présente plusieurs avantages par rapport aux autres disciplines. Le premier est le caractère quasi-immuable du génome constitutionnel au cours de la vie d'un individu, ce qui permet d'avoir une détermination unique. Le deuxième est le caractère prédictif décrit plus tôt. Le troisième est le coût décroissant des analyses génétiques, pouvant être pris en charge par le diagnostic de la pathologie d'origine génétique dans le cas du séquençage pangénomique.

Accessibilité de l'information PGx

The human Cytochrome P450 Allele Nomenclature Website

Depuis la découverte du rôle du *CYP2D6* dans le métabolisme de la débrisoquine, un travail important fut effectué pour identifier et caractériser le polymorphisme des cytochromes. L'accumulation de ces données issues de la recherche a conduit à la création en 1999 du comité de nomenclature aux USA. Le but de ce comité était de créer des règles simples pour la nomenclature des futurs allèles.

Ce travail a donné naissance en 2010 au site internet : The human Cytochrome P450 Allele Nomenclature Website (Sim & Ingelman-Sundberg, 2010). Le but de ce site était la description de nouveaux allèles, la facilitation de leurs publications ainsi que de répertorier leurs effets cliniques associés.

Aujourd'hui, le site n'est plus soutenu mais une image archive est stockée sur le site pharmvar.org (https://www.pharmvar.org/htdocs/archive/index_original.htm). Néanmoins, ces travaux ont structuré la nomenclature des gènes pharmacogénétiques encore utilisée aujourd'hui.

The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium

Débuté en 2009 sous l'impulsion du Pharmacogenomics Research Network (PGRN), le CPIC est un consortium international de professionnels volontaires intéressés par la mise en place des tests pharmacogénétiques dans le parcours de soin des patients. Ce groupe propose des recommandations pour 271 molécules et 119 gènes facilement accessibles sur leur site internet (<https://cpicpgx.org>). L'intégralité de leurs publications est aussi présente en libre-accès par le biais du journal Clinical Pharmacology and Therapeutics. L'ensemble de ces éléments expliquent pourquoi le CPIC est le canal d'informations privilégié de nombreux laboratoires dans la diffusion de l'information Pharmacogénétique.

Introduction

The Dutch Pharmacogenetics Working Group

Créé officiellement en 2005 par la Royal Dutch Pharmacist's Association (KNMP), les premiers membres du DPWG ont commencé à publier leurs travaux avant cette date (van Gelder et al., 2004). L'ensemble de leurs recommandations sont difficilement accessibles par le biais du site internet du KNMP, heureusement un travail de fond s'est enclenché en 2020 par le biais de recommandations dans *The European Journal of Human Genetics*. Ce retard montre que l'Europe peine à mettre en place la pharmacogénétique en routine et que d'autres preuves de son importance doivent être apportées pour convaincre les praticiens européens.

Le réseau francophone de pharmacogénétique

Les prémices du réseau sont apparues en 2007 avec la constitution d'un groupe de travail d'expert français à l'initiative du Professeur Marie-Anne Lorient (Allorge et al., 2007). Le réseau n'a cessé de grandir avec l'intégration de praticiens de pays francophones avec très tôt la Belgique, représentée par le Professeur Vincent Haufroid, puis plus récemment la Suisse, le Canada, et la Tunisie (<https://rnpgx.shinyapps.io/RNPGx>). La grande majorité des recommandations sont publiées sur dans des journaux en langue française comme le *Bulletin du Cancer* ou *Therapies* (accès payant).

La base de données PharmGKB

Comme vu précédemment, chaque groupe d'expert a décidé de publier des recommandations adaptées à leurs pratiques, leurs cadres législatifs et leurs structures de soins. Devant ces divergences déjà relevées dans la littérature, il est nécessaire d'harmoniser la connaissance pharmacogénétique pour délivrer un message clair et unique en se basant sur la littérature (Bank et al., 2018). Pour agréger la connaissance pharmacogénétique issues de la recherche mondiale, l'équipe de PharmGKB se consacre à l'étude du couple gène-molécule et son impact biologique observé et/ou son impact médical démontré. Pour un couple gène-molécule, plusieurs variations sont décrites avec une classification selon leurs niveaux de preuve. (<https://www.pharmgkb.org>). En regroupant les recommandations de plusieurs groupes d'expert, cette base de données s'enrichit avec une diffusion libre. Cette classification va du niveau 1, pour les variations ayant les plus forts niveaux de preuve de leurs impacts cliniques, au niveau 4, pour les variations aux plus faibles niveaux de preuve. Aujourd'hui, cette base propose plus de 5000 annotations cliniques (90% pour le niveau 3). (Figure 4)

Introduction

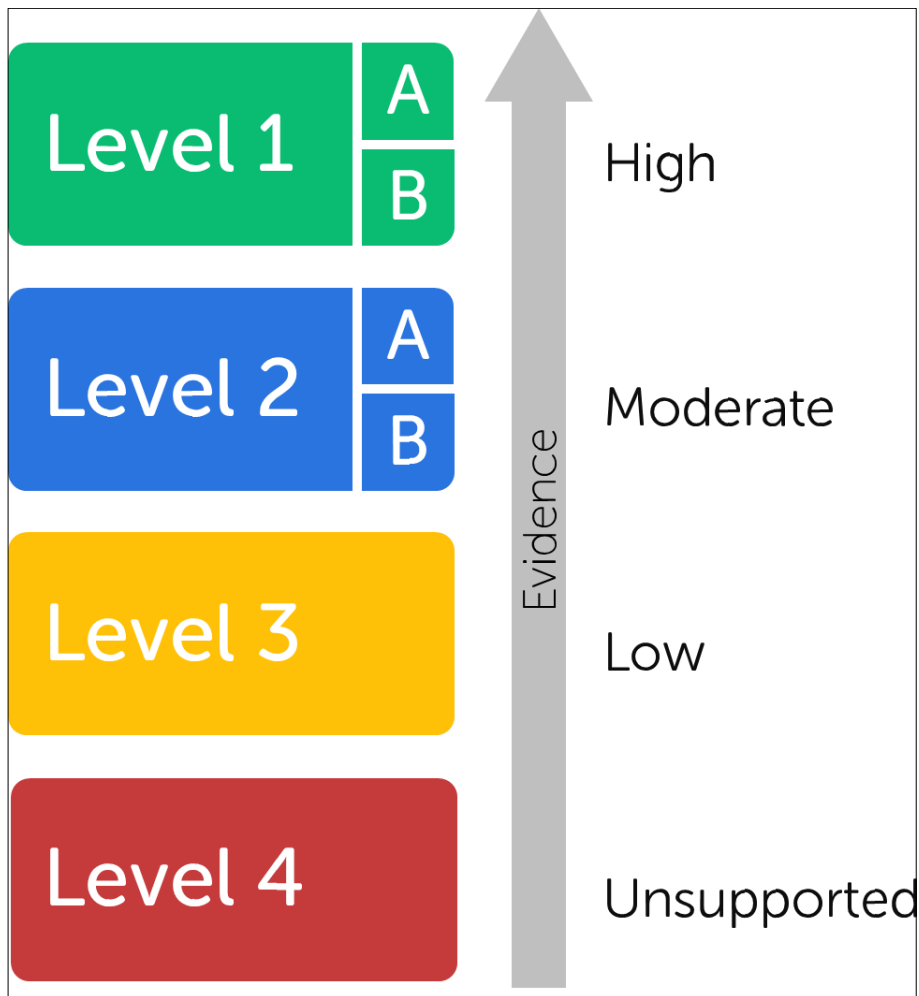


Figure 4 : Classification des variants dans la base de données PharmGKB. D'après la base de données PharmGKB

Conversion Génotype-Phénotype

De nombreuses études fonctionnelles ont été effectuées pour définir la fonctionnalité des différents allèles des pharmacogènes. Un allèle peut comprendre plusieurs variations, entraînant plusieurs conséquences. La première est que l'ensemble des variations de faible impact est pris en compte. La seconde est le nombre important d'allèles pour les gènes polymorphiques avec pour exemple le *CYP2D6*, le *G6PD* et les gènes du groupe HLA. Ensuite, 3 effets du génome sur la réponse médicamenteuse sont observés (Figure 5). Le premier est l'absence de réponse par perte de fonction de la cible pharmacologique. Le second est une réaction anormale de type allergique. Enfin, la dernière agit sur le métabolisme du médicament ; c'est l'interaction la plus décrite dans les bases de données avec l'implication majeure des cytochromes dans le métabolisme de

Introduction

nombreuses molécules. Dans le cas de la métabolisation, chaque allèle possède son activité enzymatique propre. Les pharmacogénéticiens ont donc classé les allèles selon leur activité et leur ont assigné un score. Une fois le score recueilli pour l'allèle d'origine paternel et d'origine maternel, un score d'activité total est calculé pour l'enzyme codée par le gène. Nous pouvons classer les individus selon ce score, obtenant ainsi le statut métaboliseur. (Figure 5)

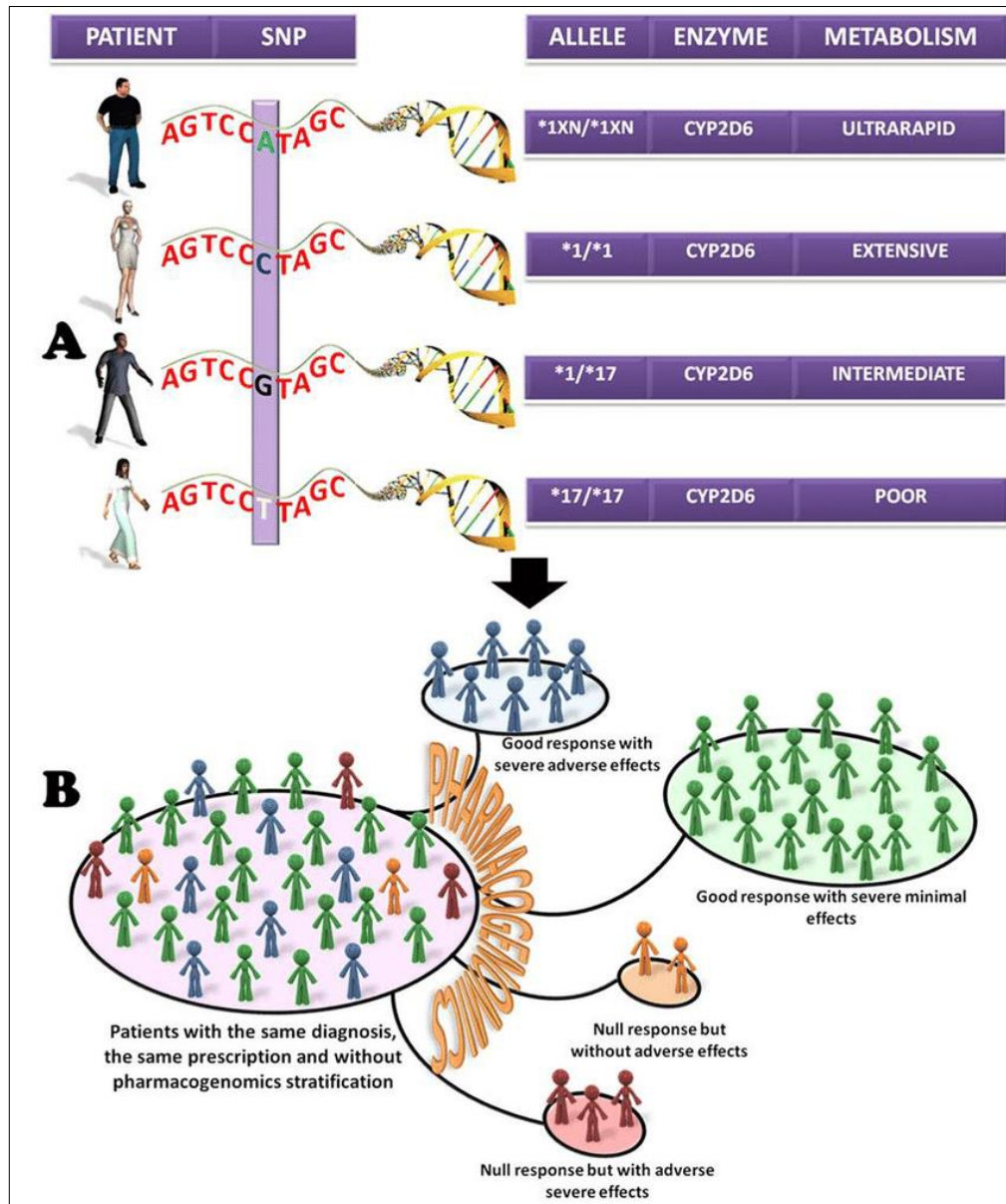


Figure 5 : Influence du génome dans la réponse médicamenteuse avec l'exemple du génotypage du CYP2D6. D'après (León-Cachón et al., 2012).

Introduction

Le statut métaboliseur fut déterminé par la méthode Delphi en regroupant des experts américains (Caudle et al., 2017). Le score d'activité assigné aux personnes possédant le score d'activité le plus fréquemment retrouvé dans la population générale est de 2 (score d'activité égale à 1 pour chaque allèle). Un score de 2 représente la normalité et se traduit par le terme « métaboliseur normal ». Ensuite des groupes sont créés en fonction des scores observés. (Figure 6) Les groupes « métaboliseur intermédiaire » et « métaboliseur lent » représentent une activité diminuée et très diminuée. Les groupes « métaboliseur rapide » et « métaboliseur ultra-rapide » représentent une activité augmentée et très augmentée. Cependant, cette classification effectue une moyenne mondiale et cela conduit à des situations où la majorité des individus au sein d'une ethnie n'est pas « métaboliseur normal ». Par exemple, au sein de la population Est-asiatique, le groupe majoritaire vis-à-vis du *CYP2C19* est le groupe des « métaboliseur intermédiaire ». (Figure 6)

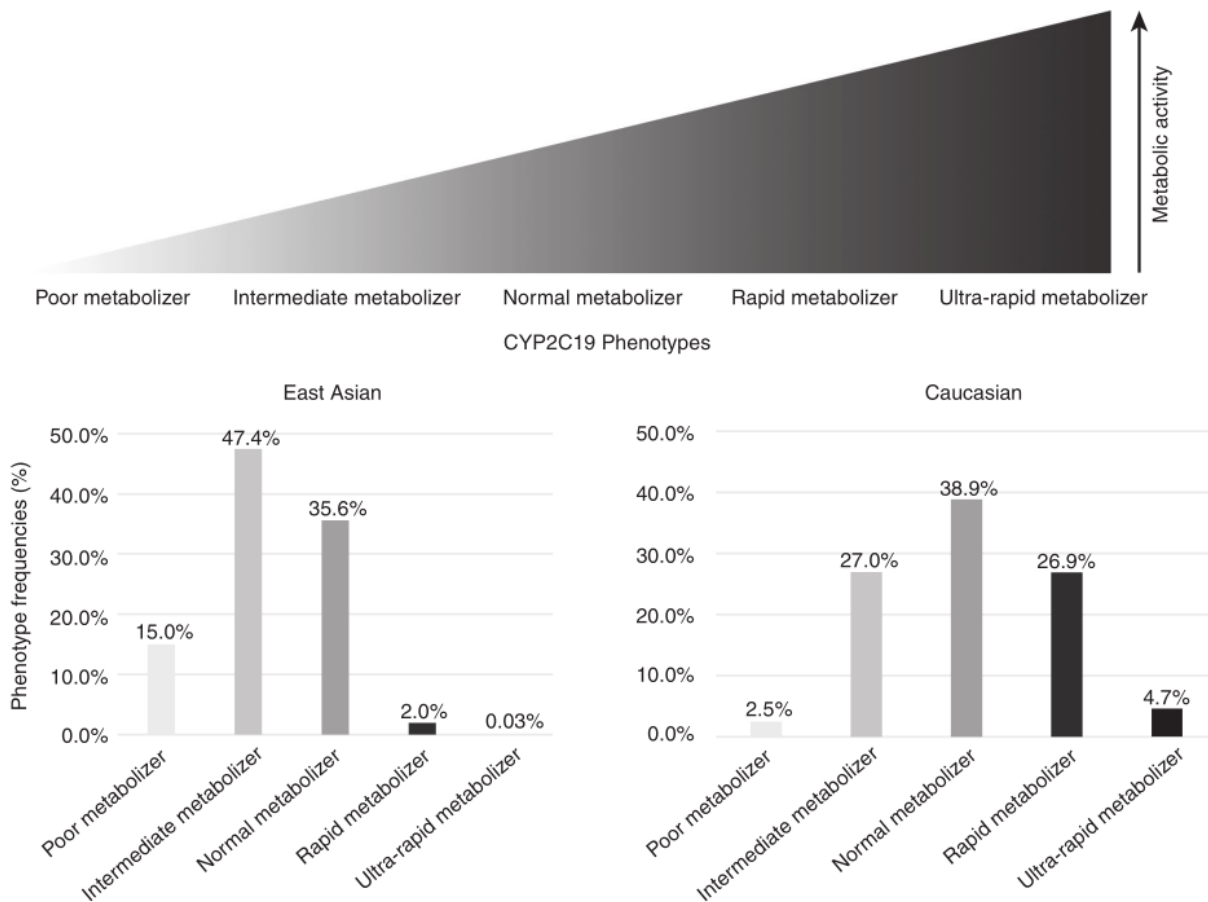


Figure 6 : Détermination des statuts métaboliseur en normalisant les scores d'activité retrouvé. Représentation des proportions phénotypiques pour la population d'Asie de l'Est et la population caucasienne. D'après (Caudle et al., 2017).

Introduction

Freins au développement de la PGx

De nombreux obstacles réduisent l'utilisation de la pharmacogénétique en pratique courante (Figure 7).

Le premier obstacle est la faible incitation à la prescription de tests pharmacogénétiques. En effet, une très faible proportion de ces tests fait l'objet de mention dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP) des médicaments concernés et les éléments fournis, le cas échéant, sont en général insuffisants pour juger de la nature du test à réaliser et de son utilité.

Le second, est le lien génotype-phénotype incomplet, la prédiction du statut métaboliseur peut être influencée par d'autres mécanismes comme les interactions médicamenteuses. Ceci rend difficile la prédiction de l'ensemble des effets médicamenteux avec les données génétiques.

Le troisième est la relative rareté des publications traitant du coût médico-économique des tests pharmacogénétiques (Verbelen et al., 2017).

L'ensemble de ces obstacles ont conduit à un faible nombre d'examens pharmacogénétiques par rapport au nombre de prescriptions. Les deux premiers obstacles influent directement sur la prise en compte de l'information pharmacogénétique par le prescripteur. Seules des études solides, couplées à une information claire, pourront faire changer les pratiques. Le séquençage pangénomique, couplé à l'utilisation des données secondaires, permettent de diminuer les coûts d'examens par rapport au séquençage pangénomique et panel de gènes, ainsi nous pouvons résoudre le troisième obstacle. En réalisant un séquençage pangénomique, dans un but diagnostique, l'accès à l'information pharmacogénétique devient accessible à faible coût ; c'est dans ce cadre que de nombreuses analyses par séquençage pangénomique sont effectuées. (Thauvin-Robinet et al., 2019) Devant le succès du séquençage d'exome et son utilisation dans des nombreux champs d'application, il est pertinent d'évaluer l'intérêt de l'information pharmacogénétique en lien avec la pathologie pour laquelle l'examen est prescrit.

Introduction

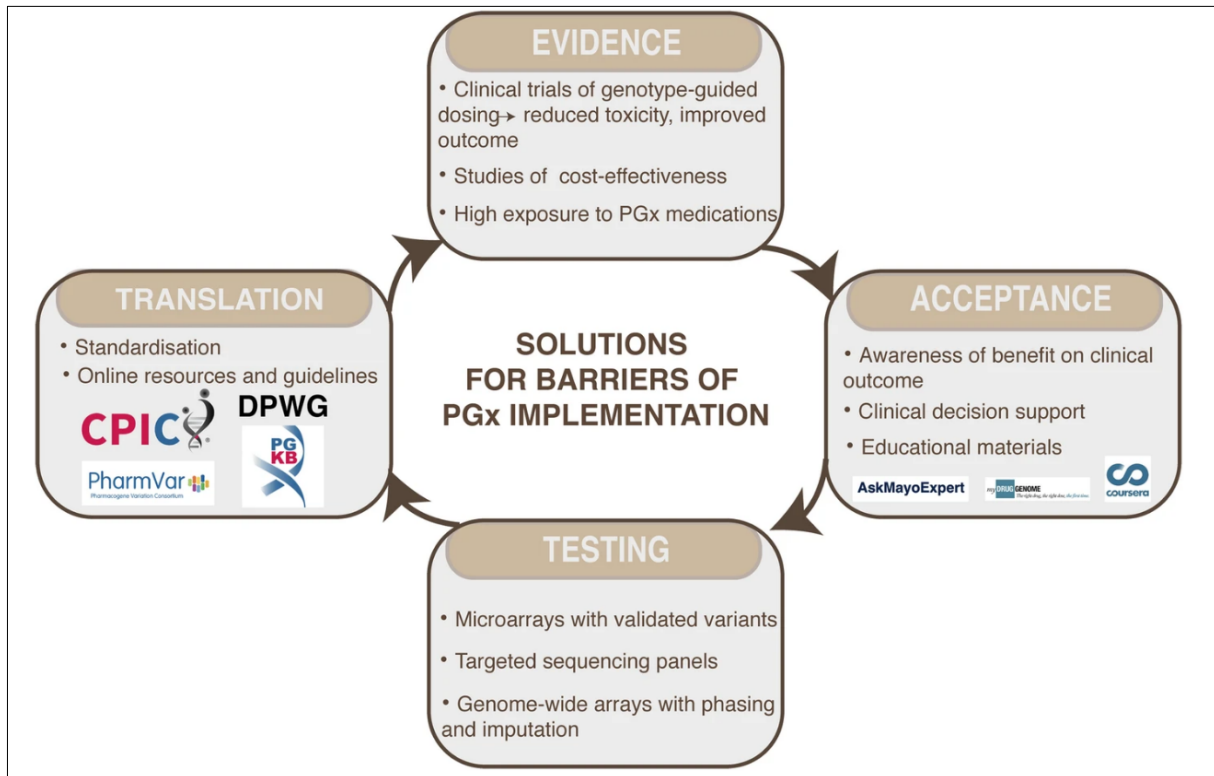


Figure 7 : Freins majeurs dans la mise en place de la pharmacogénétique. D'après (Krebs & Milani, 2019)

Projets en PGx

Implementing GeNomics In pracTice (IGNITE)

Pour implanter la médecine dans l'offre de soins américaine, plusieurs projets ont vu le jour ; un projet en particulier se concentre sur la pharmacogénétique : le projet IGNITE. Ce projet fait partie d'un projet plus global appelé « The Precision Medicine Initiative » lancé en 2015 par le Président Obama. Le but de ce projet est de développer les techniques et les infrastructures pour l'exploitation et la gestion des données dans le cadre de la médecine de précision (Collins & Varmus, 2015).

Les objectifs du projet IGNITE sont les suivants :

- 1) Rassembler et étendre les différents projets existants promouvant l'implantation de la médecine génomique.
- 2) Développer de nouveaux projets collaboratifs pour l'implémentation de la médecine génomique

Introduction

3) Contribuer à une base de preuves servant à l'utilisation de l'information issue de la médecine génomique dans le soin courant.

4) Définir, partager, et disséminer les recommandations de l'implémentation de la médecine génomique.

Le projet IGNITE donna lui-même naissance à 6 études dans 7 Universités différentes : Duke University, Indiana University, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, University of Florida, University of Maryland, Vanderbilt University, University of Pennsylvania. (Weitzel et al., 2016)

Les études portées par les Universités sont listées ci-dessous :

Duke University – implémentation, adoption et utilité de l'histoire familiale dans divers milieux de soins.

Icahn School of Medicine at Mount Sinai – Tests génétiques pour comprendre et adresser les patients atteints de maladies rénales diverses.

Indiana University – Indiana génomique Implémentation : une opportunité pour les non-desservies.

University of Florida – Programme de médecine personnalisée.

University of Maryland – diagnostic génomique et thérapies personnalisées pour les diabètes d'origine génétique à forte pénétrance.

Vanderbilt University – Réseau de Prescription intégré, individualisé et intelligent

PREemptive Pharmacogenomic testing for prevention of Adverse drug REactions (PREPARE)

Pour répondre au manque d'intégration de la pharmacogénétique dans l'offre de soins, le programme Horizon-2020 de la commission européenne a financé le consortium « Ubiquitous Pharmacogenomics » (U-PGx). Celui-ci a créé une étude clinique prospective, randomisée, appelée PREPARE, regroupant 7 pays européens (Pays-Bas, Royaume-Uni, Autriche, Espagne, Grèce, Slovénie, Italie) (Swen et al., 2023).

L'étude PREPARE vise principalement à évaluer l'impact de la mise en œuvre du PGx sur l'incidence des événements indésirables. Les résultats supplémentaires incluent la rentabilité, les indicateurs de processus pour la mise en œuvre et l'adoption des tests pharmacogénétiques. Un troisième volet étudie les méthodologies

Introduction

innovantes, telles que le séquençage de nouvelle génération (NGS), la modélisation pharmacocinétique et la pharmacologie des systèmes pour la découverte de nouvelles variations supplémentaires associées à la réponse aux médicaments et pour élucider les interactions médicament-gène. La quatrième composante se concentre sur les questions éthiques du projet et les implications des tests pharmacogénétiques, il sera le fer de lance des activités de sensibilisation et d'éducation.

Par rapport aux États-Unis, les projets au sein de l'Union Européenne rencontrent probablement encore plus de difficultés pour parvenir à leurs mises en œuvre, étant donné le multilinguisme, les différents environnements juridiques et les systèmes de santé hétérogènes au sein des pays membres.

Utilisation du séquençage haut débit de seconde génération appliqué à la Pharmacogénétique

Selon le nombre de gènes à analyser et les coûts de séquençage voulus, plusieurs utilisations sont possibles avec le séquençage de 2ème génération.

Panel ciblé de gènes

Les panels permettent d'explorer une liste de gènes connus en utilisant une méthode de capture ou d'amplification spécifique. Il peut s'agir d'un séquençage étendu ou d'un « génotypage par séquençage de multiples marqueurs ». Cette méthode requiert moins de matériel et produit moins de données de séquençage, ce qui facilite leurs traitements. L'étape de « pooling » permet d'effectuer une amplification globale de l'ensemble des échantillons. Il est à noter qu'il est nécessaire de fixer les adaptateurs et donc créer les bibliothèques de séquençage avant le « pooling » et l'amplification pour que les amplicons puissent adhérer à la flow-cell.

La méthode de capture utilise un kit contenant des sondes d'oligonucléotide (ADN ou ARN) biotinylées (avec biotine). Les sondes biotinylées sont créées afin de cibler les zones d'intérêts (gène entier, séquences codantes des gènes, ou régions particulières pour du génotypage par séquençage). Le but est qu'il y ait une hybridation entre les fragments d'ADN de l'échantillon et les sondes biotinylées. Cette hybridation va retenir nos fragments d'ADN et donc sélectionner les zones d'intérêts. Une fois les sondes séparées du reste du mélange, une deuxième étape de séparation est faite à l'aide de la streptavidine. La streptavidine va former un complexe biotine-streptavidine et ainsi relarguer les fragments d'ADN d'intérêts.

Cette utilisation présente plusieurs intérêts, elle permet de diminuer le coût du séquençage (pour une couverture similaire) par rapport aux autres méthodes. Les médicaments concernés par des couples gène-

Introduction

molécule étant connus nous pouvons cibler le panel sur des gènes d'intérêts. Ainsi, nous avons une liste restreinte de plusieurs gènes qui peuvent être analysés à forte profondeur. Plusieurs projets de recherche pharmacogénétiques utilisent un panel de gènes, comme le projet européen PREPARE. Au cours de celui-ci, il fut montré que l'utilisation du panel de gène comme approche préemptive est plus rentable et plus pratique que celle basée sur l'analyse ciblée d'un seul gène (Niedrig et al., 2021; C. van der Wouden et al., 2017). L'étude PREPARE apporte d'autres informations comme l'estimation que 24,2 % de toutes les ordonnances auront une interaction médicament-gène pertinente (C. H. van der Wouden et al., 2019) ; mais aussi que le coût estimé de l'utilisation d'un panel de gène avant chaque prescription est de 300 à 1500 euros suivant le nombre de gènes. En partant d'un nombre de prescriptions incidentes estimé à 2168 euros par an pour les Pays-Bas (C. H. van der Wouden et al., 2019), le prix du déploiement du panel varie de 650 400 à 3 252 000 euros. Finalement, l'investissement d'un panel de gènes sur le long terme permettrait d'économiser 1035,60 euros par patient.

Le panel PGx-40 a été défini par consensus du RNPGx et est utilisé en routine hospitalière dans 3 centres francophones (Bruxelles, Limoges et Nîmes).

Pangénomique

Plusieurs techniques sont utilisées pour étudier l'ensemble du génome humain. La première est la sélection des séquences d'ADN d'intérêts (codants, zones promotrices...) par capture, appelée « exome sequencing » et la seconde qui s'affranchit de la capture est appelée « genome sequencing ».

Le mécanisme de capture reste similaire à celui du panel de gènes mais les résultats de cette capture peuvent différer grandement selon le kit utilisé. Des disparités sur les zones couvertes sont retrouvées entre les différents kits (Majewski et al., 2011). Cependant, le succès de cette technologie dans le diagnostic médical n'est plus à démontrer (Mansour-Hendili et al., 2020; Smith et al., 2019) et conduit certains auteurs à présenter le séquençage d'exome comme un examen de première intention pour des indications ciblées (Srivastava et al., 2019). Le séquençage d'exome possède aussi des arguments économiques en faveur de son utilisation en première intention (Aaltio et al., 2022) Enfin la possibilité de réanalyser les données permet d'augmenter le taux diagnostic grâce aux mises à jour des bases de données médicales (Bruel et al., 2019; Nambot et al., 2018). L'ensemble de ces avantages explique pourquoi le séquençage d'exome tend à s'imposer comme examen de diagnostic de référence de première intention pour les maladies génétiques rares. Cependant, certains désavantages sont à notifier : le coût du séquençage pangénomique et le délai de rendu sont plus élevés. Le coût du séquençage décroît depuis 2007, avec un coût initial de 70 millions de dollars

Introduction

jusqu'aujourd'hui où il est possible de séquencer un génome diploïde humain pour moins de 2000 dollars (Lunshof (Co-first author) et al., 2010). Ensuite, l'apparition du « fast-exome » permet le séquençage d'exome clinique en moins de 24h (Wang et al., 2020). Dans le cadre de la pharmacogénétique, l'exome possède certaines limitations dont une partie peut être levée par un travail bioinformatique. La première limitation est la détection des variations de structure. En effet lors de la capture, nous perdons une grande partie de l'information non-codante qui va alors cacher l'apparition de potentiels points de cassure causés par les remaniements. Néanmoins, pour les variations du nombre de copie, il est possible par l'analyse de la profondeur des exons, de détecter des pertes ou des gains de matériel (Fromer & Purcell, 2014). La seconde limitation est la séquence de référence imparfaite. Les gènes étudiés en pharmacogénétique peuvent posséder des caractéristiques liées à leur structure (*CYP2D6*) ou bien leurs polymorphismes (gènes du groupe des HLA) rendant la conversion génotype-phénotype impossible par lectures courtes. Des outils bioinformatiques de reconstruction des phases maternelles et paternelles permettent de corriger cela. La troisième limitation est liée à la technique utilisée car la majorité des kits de capture ne prennent pas en compte les régions non-codantes d'intérêt pharmacogénétique (Chua et al., 2016). Par exemple, les variations pharmacogénétiques situées sur la partie promotrice du gène *UGT1A1* ne seront pas détectées avec certains kits de capture disponibles sur le marché (Toffoli et al., 2006).

La dernière utilisation présentée est le séquençage de génome. Cette technique possède un taux diagnostique plus important mais un coût de réalisation est plus élevé. Par ailleurs, elle demande des capacités de stockage et un temps d'analyse plus important. D'un point de vue pharmacogénétique, le séquençage de génome permet de s'affranchir des limitations et de la variabilité liées aux kits de capture (Lelieveld et al., 2015). En revanche, les limitations en lien avec la séquence de référence restent les mêmes (Chen et al., 2021). L'apport principal de cette technologie est l'analyse des variations de structure, possible par un traitement bioinformatique. En effet, l'avantage principal par rapport au séquençage de l'exome est la possibilité d'analyser l'ensemble du génome, ouvrant la détection de l'ensemble des points de cassure. A contrario, le traitement des données de l'ensemble de ces points de cassure est un des défis bioinformatiques majeurs avec cette technologie (Tattini et al., 2015).

Introduction

Gestion des données secondaires en pharmacogénétique

Les données secondaires en lien avec la pharmacogénétique sont traitées au même titre que les autres données secondaires génétiques. Cela interdit donc l'utilisation de ces données non recherchées en première intention (Arrêté du 27 mai 2013). En 2019, la révision de cette loi permet « d'informer la personne de découvertes génétiques incidentes, au cours d'un examen réalisé à d'autres fins, dès lors que ces informations présentent une utilité sur le plan médical pour elle-même ou pour les membres de sa famille ». Ce qui pourrait potentiellement donner accès à ces données pharmacogénétiques si elles présentent « une utilité médicale ».

La question des données secondaires pharmacogénétiques est aussi étudiée aux Etats-Unis. L'American College of Medical Genetics and Genomics préconise le rendu d'un seul pharmacogène (RYR1) dans ses recommandations (Miller et al., 2021). L'ACMG reconnaît l'aspect efficience des coûts de l'ES et du GS pour la génération d'un profil pharmacogénétique, profil qui pourrait être utilisé de manière préventive. La raison évoquée pour exclure les autres pharmacogènes est : « l'existence de difficultés pour les laboratoires de rendre les variations cliniquement exploitables dans ces gènes et pour la reconstruction des haplotypes ».

Les arguments portés par l'ACMG se fondent sur 2 exemples. Le premier est la non-détection des régions promotrices pour les gènes *CYP2C19* et *VKORC1* avec l'ES. Les variations d'intérêt étant un SNP situé 806 bases avant le codon d'initiation pour le *CYP2C19* (marqueur de l'allèle *CYP2C19*17*) et le SNP c.-1639G>A pour *VKORC1*. Le second exemple concerne le *CYP2D6* et la difficulté de reconstruction des haplotypes à partir de données d'ES ou de GS pour ce gène sujet à remaniements (Figure3).

L'inutilisation des données secondaires relève de problèmes technologiques plus que scientifiques selon l'ACMG. Il est donc nécessaire d'explorer les possibilités.

Objectifs du travail de thèse

Objectifs du travail de thèse

L'objectif de la thèse est d'explorer les possibilités du séquençage d'exome dans le cadre de la pharmacogénétique. Nous tenterons de répondre à certaines interrogations et certains défis posés par l'analyse de ces données. Le premier objectif de cette thèse est d'extraire l'information pharmacogénétique dans les données d'exome. Le second objectif est de connaître quels sont les traitements reçus par les patients de notre cohorte en lien avec cette information. Enfin, une fois cette information recueillie nous aimerons connaître l'avis des professionnels de santé vis à vis de cette information.

Le premier axe de travail a consisté en l'étude de l'intérêt des variations secondaires au sein d'une cohorte de patient atteints d'épilepsie ayant bénéficiés d'un séquençage d'exome diagnostique (article 1). Le second axe se concentre sur l'intérêt des variations secondaires au sein d'une cohorte de patient porteurs d'un cancer solide ayant bénéficié d'un séquençage d'exome diagnostique (article 2). Le troisième axe porte sur la diffusion d'un questionnaire auprès des médecins et pharmaciens pour connaître leurs expériences, leurs attitudes et leurs intérêts vis-à-vis des données pharmacogénétiques (article 3).

Le potentiel translationnel de ce travail est important avec comme objectifs secondaires de proposer des pipelines bioinformatiques spécialisés et l'amélioration des pratiques actuelles. Bien que l'extraction des variations pharmacogénétiques soit aujourd'hui possible par le séquençage haut débit pangénomique, ces données restent inexploitées.

Méthodes

Méthodes

Analyse bioinformatique

Le pipeline d'analyse d'exome pour la détection des SNV et des indels suit les recommandations du Broad Institute (Fig12).

Un pipeline est une succession d'analyses bioinformatiques ; le but de celui-ci est d'obtenir l'ensemble des variations contenues dans nos gènes suivant une liste préalablement définie. Une étape d'annotation supplémentaire est ajoutée pour avoir une annotation spécifique à la pharmacogénétique.

Lors de la capture du signal fluorescent par le séquenceur, nous avons la conversion de ce signal en données informatiques. Le format de stockage de ces données est le FASTQ, ce fichier contient l'ensemble des lectures issues du séquençage. Ce format est sous la forme de 4 lignes par lecture, la première ligne est l'identifiant unique caractérisé par le caractère « @ ». La seconde est la séquence nucléotidique de la lecture. La troisième ligne contient un caractère « + » parfois couplé à l'identifiant de la lecture. La quatrième contient le score de qualité de chaque base, cette ligne doit posséder le même nombre de caractère que la seconde, car chaque base reçoit un score Phred Q sous la forme d'un caractère ASCII. Le score Phred Q est la probabilité qu'une base soit appelée par erreur avec la probabilité P qui est égal à $10^{-(q/10)}$. Ensuite, on commence le code à la décimale 33 correspondant au caractère « ! » car les décimales précédentes ne sont pas ou peu différenciables pour un humain.

Les premières étapes sont des étapes servant au nettoyage des lectures, ce nettoyage permet d'améliorer la qualité de l'analyse. Dans un premier temps, il faut analyser la qualité de données brutes, pour cela nous utilisons l'outil FASTQC (v.0.11.4) (Andrews, 2010). Ensuite, une étape de filtration est effectuée afin de garder les bases de « bonne qualité », les séquences de taille acceptable et de retirer les adaptateurs. Enfin, nous alignons les lectures sur le génome de référence pour connaître les coordonnées génomiques de nos lectures sur cette référence. Plusieurs logiciels d'alignement sont disponibles mais l'outil le plus utilisé est BWA (Li & Durbin, 2009), que nous avons choisi. L'information de cet alignement est stockée sous la forme

Méthodes

d'un fichier au format BAM. Le format BAM est un format compressé issu du format SAM. Dans un fichier SAM sont stockées les informations suivantes : un header reconnaissable par ses lignes commençant par un caractère « @ » puis des lignes tabulées représentant les lectures composées de 11 blocs (nom de la séquence, « flag » ou drapeau, nom de la référence, position sur la référence, score d'alignement, une chaîne de caractère appelée CIGAR, nom de la séquence de référence dans l'alignement primaire, position dans l'alignement primaire, taille de la séquence alignée, séquence, le score Q Phred).

Une fois l'alignement effectué, une nouvelle phase de nettoyage commence. La première est une étape d'élimination des duplicats de PCR. Cette étape est effectuée pour corriger les variations de profondeur mais aussi rétablir la balance allélique. Le réalignement des indels et la recalibration des bases vont permettre d'éviter les faux positifs dus à la technologie ou un alignement raté d'une ou plusieurs lectures.

Une fois les lectures alignées et nettoyées, il faut récolter les différences entre les lectures et la référence pour obtenir la liste des variations. L'outil choisi provient de la suite logicielle GATK (version 3.8), nous avons choisi d'appeler les variations à l'aide de l'outil Haplotype Caller. L'information provenant de cet outil est stockée sous la forme d'un fichier au format VCF. Le fichier VCF est un fichier tabulé avec un entête suivant des variations contenues sur une ligne. Le fichier VCF contenant les variations est composée de 8 colonnes (nom du chromosome, position sur le chromosome, identifiant, base de référence, base alternative, score de qualité, statut de filtration, une colonne information).

Nous allons ensuite filtrer les variations contenues dans nos gènes pharmacogénétiques sélectionnés. Pour ce faire, nous utiliserons l'identifiant contenu dans le fichier VCF issu de la base dbSNP pour extraire nos variations d'intérêt. Un script python (version 2.7.18) utilisant la librairie pysam est utilisé. D'autres gènes nécessitent un traitement bioinformatique particulier. C'est le cas des gènes du groupe HLA où nous avons utilisé HLAScan (version 1.0.0) (Ka et al., 2017) mais aussi du *CYP2D6* où nous avons utilisé Stargazer (v.2.0) (S. Lee et al., 2019). Enfin les CNVs sont appelés à l'aide du logiciel xHMM (Fromer & Purcell, 2014). Les CNVs sont ensuite stockés sous la forme d'un fichier tabulé.

Méthodes

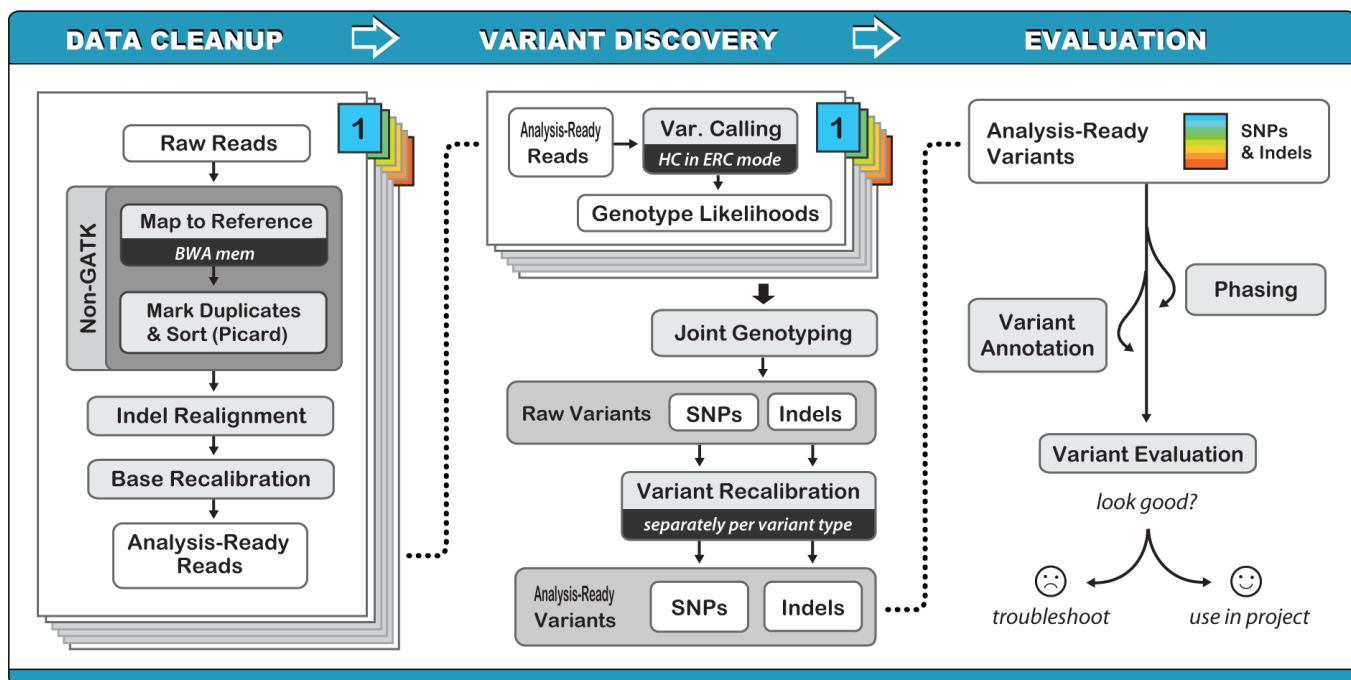


Figure 8 : Principales étapes d'un pipeline bioinformatique détectant les variations génomiques constitutionnelles (d'après le Broad Institute).

**Article 1 : Exome sequencing allows detection
of relevant pharmacogenetic variants in
epileptic patients.**

Article 1

Résumé de l'article

Les encéphalopathies épileptiques sont une des formes les plus sévères d'épilepsie d'origine génétique. A ce jour, plus de 60 gènes différents sont associés à ce syndrome, dont la moitié avec une transmission autosomique dominante non-héritée

Notre cohorte est constituée de patients atteints d'épilepsie d'origine génétique, ces patients furent adressés aux Centres de Référence "Anomalies du développement et des Syndromes Malformatifs" et "Déficiences intellectuelles de causes rares" du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Dijon Bourgogne. Ces patients présentaient tous une épilepsie d'origine génétique ou une épilepsie consécutive à leurs malformations et, dans le cadre de leur prise en charge, ont reçu plusieurs traitements antiépileptiques.

Cette cohorte rétrospective est constituée de 231 patients majoritairement d'origine caucasienne, ayant bénéficié d'un séquençage d'exome. Nous avons ensuite sélectionné les patients sur le terme HPO (human phenotype ontology). Les termes HPO sont des symptômes standardisés pour la description des phénotypes décrit dans les maladies humaines. Pour constituer notre cohorte, le terme "seizures" a été recherché dans notre base de données.

Au cours de ce travail, nous avons constitué une liste de 28 gènes et de 81 variations issues de la base PharmGKB. Pour les SNV de cette liste, 2 variants sont de niveau 1, 8 de niveau 2, 66 de niveau 3. Ensuite, nous avons analysé les gènes du groupe HLA séparément avec deux locus d'intérêt : *HLA-A* et *HLA-B*. Nous avons sélectionné 29 allèles incluant 3 de niveau 1, 2 de niveau 2 et 24 de niveau 3.

L'analyse bioinformatique des variations hors HLA révèle une couverture par le séquençage d'exome de 97,5 % de notre liste de couples variant/molécule. Les deux variants de niveau 1 du *CYP2C9* sont détectés par séquençage d'exome. Au sein de notre cohorte, 4 patients sont porteurs d'au moins une des variations de niveau 1 de ce gène et ont reçu le traitement associé.

Pour les allèles du groupe HLA, nous avons déterminé le génotype pour 2 gènes (*HLA-A* et *HLA-B*) pour les 90 patients de la cohorte, soit l'analyse totale de 360 allèles. Dans notre cohorte,

Article 1

aucun patient n'a reçu le traitement associé à une recommandation en lien avec l'un des allèles retrouvés.

Génotype	CYP2C9*1/*2	CYP2C9*1/*3	CYP2C9*2/*3	HLA-A*31:02:01
Variant ou allèle	rs1799853	rs1057910	rs1799853 et rs1057910	HLA-A*31:02:01
Traitement associé	phénytoïne	phénytoïne	phénytoïne	Carbamazépine
Fréquence dans la cohorte	15/90	10/90	1/90	3/90

Table 1 : Combinaisons des variations de niveau 1 parmi les patients de la cohorte, selon la liste PharmGKB extraite.

Nous avons recherché les résultats des dosages plasmatiques de phénytoïne pour les 4 patients porteurs d'une variation de niveau 1 ainsi que pour les non-porteurs. Les 4 patients porteurs d'une variation de niveau 1 ont présenté au moins un épisode de surexposition alors que seulement un patient (sur 15, soit 7%) présentait une surexposition chez les non-porteurs.

Caractéristiques	PED3668.1	PED1924.1	PED3786.1	PED4523.1
Dose de phénytoïne de départ	15 mg/kg/30min	10 mg/kg/30min	16 mg/kg/30min	23 mg/kg/30min
Concentration plasmatique maximale atteinte	32,7 mg/L	25,5 mg/L	35,1 mg/L	23,7 mg/L
Génotype vis-à-vis du CYP2C9	CYP2C9*1/*2	CYP2C9*1/*3	CYP2C9*1/*3	CYP2C9*1/*2

Table 2 : Données pharmacogénétiques pour les 4 patients porteurs d'une variation de niveau 1 pour le CYP2C9

Article 1

Discussion - perspectives

Ce travail montre que l'extraction des ces variations de niveau 1 selon la liste PharmGKB en lien avec les traitements antiépileptiques est possible à partir de données provenant d'un séquençage d'exome. Pour ce faire, nous avons développé un pipeline d'extraction des variations pharmacogénétiques. L'analyse des données d'exome a permis de détecter 30 individus porteurs d'un ou plusieurs variants pharmacogénétiques d'intérêt. Sur ces 30 individus, 4 ont reçu la molécule en lien avec leur variant, ces patients ont tous présenté une surexposition concordante avec leur statut particulier de métaboliseur.

Un de nos résultats majeurs est la différence de la fréquence de survenue d'une surexposition entre les patients porteurs d'une variation de niveau 1 et ceux non-porteurs d'une de ces variations mais ayant reçu le traitement. Cela montre l'importance de transmettre ces variations pour les patients épileptiques bénéficiant d'un séquençage d'exome. Bien que nos résultats portent sur un nombre faible de patient, l'impact des variations du *CYP2C9* sur le métabolisme de la phénytoïne est bien retrouvé dans notre cohorte.

Cette étude rétrospective fait ressortir les obstacles bioinformatiques lors de l'extraction des variations pharmacogénétiques en lien avec les traitements antiépileptiques avec l'ajout d'outil supplémentaires pour l'extraction et l'analyse des allèles du groupe HLA. Nous avons détecté un allèle de niveau 1 pour les gènes du groupe HLA, le HLA-A:31:01:02. Cet allèle est connu pour provoquer des réactions cutanées lors de la prise de carbamazépine. Cette patiente n'a pas à notre connaissance reçu de la carbamazépine mais si sa situation venait à évoluer, cette information pourrait guider le prescripteur dans le choix d'une nouvelle thérapie.

Il est à noter que nous avons observé un faible pourcentage (4,4%, 4/90) de patients présentant à la fois une variation et ayant reçu le traitement associé. Néanmoins, nous remarquons que ces patients ont tendance à avoir un nombre plus élevé de dosages de la phénytoïne et aussi une tendance à avoir un nombre d'adaptations posologiques plus élevé. Nous supposons que cela a pour conséquence l'apparition de difficultés pour les cliniciens à stabiliser les concentrations plasmatiques dans la marge thérapeutique. Selon le CPIC, il est recommandé de diminuer la dose de charge de 25% pour les métaboliseurs intermédiaires et de 50% pour les métaboliseurs lents. Aujourd'hui, ces recommandations ne sont pas utilisées en France, la raison principale avancée est la frilosité des

Article 1

instances de santé à prendre en compte les données génétiques. Le *CYP2C9* est cité dans le RCP de la phénytoïne dans la rubrique « interactions médicamenteuses ». Les inhibiteurs et inducteurs enzymatiques sont des molécules connues pour agir sur les cytochromes en diminuant ou en augmentant l'activité ou l'expression de ces enzymes. Si la diminution de l'activité d'une enzyme par voie exogène est citée dans le RCP, nous pouvons nous demander si les voies endogènes n'y ont pas leur place également.

Les surexpositions observées chez les patients non-porteurs peuvent être expliquées par :

- une posologie non-adaptée
- une erreur d'administration, par exemple avec l'administration de deux doses de charge
- une interaction médicamenteuse
- un mécanisme inconnu

Les conséquences d'une surexposition en phénytoïne dépendent des concentrations plasmatiques. Un nystagmus horizontal peut apparaître à une concentration de 20 mg/l, une ataxie à 30 mg/l et une léthargie suivit d'une dysarthrie apparaissent quand la concentration plasmatique dépasse 40 mg/l. Des valeurs supérieures peuvent causer une dépression respiratoire ou circulatoire, potentiellement mortelles. Aucun des patients au sein de notre cohorte n'a présenté ces signes de surexposition. Cependant, le cas d'une jeune fille avec un statut métaboliseur lent ayant reçu de la phénytoïne fut publié. Cette patiente, traitée par le même protocole que dans notre cohorte, c'est à dire une dose de charge de 15mg/kg, a présenté une concentration de 60mg/l deux heures après la prise. Les symptômes décrit étaient des vertiges, un nystagmus, une ataxie et une léthargie. Ce cas met en lumière les risques encourus pour les métaboliseurs lents d'avoir recours à une dose standard de phénytoïne.

Ce travail démontre qu'il est possible d'extraire les données pharmacogénétiques à partir des données issues du séquençage d'exome. Nous avons ensuite montré l'intérêt de ces données dans une cohorte de patients atteints d'épilepsie. Nous pointons le fait que cette information était disponible dans les fichiers VCF contenant les variations mais non utilisée. Cette étude apporte de nouveaux arguments pour l'utilisation des données secondaires pharmacogénétiques. Dans le cadre de l'épilepsie d'origine génétique, transmettre les variations pharmacogénétiques secondaires améliore la sécurité de la prise médicamenteuse.

Article 1

Si la transmission des données secondaires pose des problèmes d'un point de vue législatif, cette étude pose la question de la pertinence de bloquer l'ensemble de ces données. En effet, avec une liste réduite de variants, il est possible d'améliorer la prise en charge des patients bénéficiant du séquençage haut débit d'exome, tout en ayant une information concise mais utile. Il est donc possible de prédire dans une population de patients atteints d'épilepsie, un effet indésirable iatrogène à partir des données de séquençage d'exome.

ARTICLE



Exome sequencing allows detection of relevant pharmacogenetic variants in epileptic patients

Simon Verdez ^{1,2,✉}, Quentin Thomas ^{1,2}, Philippine Garret ^{1,2,3}, Céline Verstuyft ⁴, Emilie Tisserant ^{1,2}, Antonio Vitobello ^{1,2}, Frédéric Tran Mau-Them ^{1,2}, Christophe Philippe ^{1,2}, Marc Bardou ^{5,6}, Maxime Luu ^{5,6}, Abderrahmane Bourredjem ^{6,7}, Patrick Callier ^{1,2}, Christel Thauvin-Robinet ^{1,2,8,9}, Nicolas Picard ¹⁰, Laurence Faivre ^{1,9} and Yannis Duffourd ^{1,2,✉}

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Limited 2022

Beyond the identification of causal genetic variants in the diagnosis of Mendelian disorders, exome sequencing can detect numerous variants with potential relevance for clinical care. Clinical interventions can thus be conducted to improve future health outcomes for patients and their at-risk relatives, such as predicting late-onset genetic disorders accessible to prevention, treatment or identifying differential drug efficacy and safety. To evaluate the interest of such pharmacogenetic information, we designed an “in house” pipeline to determine the status of 122 PharmGKB (Pharmacogenomics Knowledgebase) variant-drug combinations in 31 genes. This pipeline was applied to a cohort of 90 epileptic patients who had previously an exome sequencing (ES) analysis, to determine the frequency of pharmacogenetic variants. We performed a retrospective analysis of drug plasma concentrations and treatment efficacy in patients bearing at least one relevant PharmGKB variant. For PharmGKB level 1A variants, *CYP2C9* status for phenytoin prescription was the only relevant information. Nineteen patients were treated with phenytoin, among phenytoin-treated patients, none were poor metabolizers and four were intermediate metabolizers. While being treated with a standard protocol (10–23 mg/kg/30 min loading dose followed by 5 mg/kg/8 h maintenance dose), all identified intermediate metabolizers had toxic plasma concentrations (20 mg/L). In epileptic patients, pangenomic sequencing can provide information about common pharmacogenetic variants likely to be useful to guide therapeutic drug monitoring, and in the case of phenytoin, to prevent clinical toxicity caused by high plasma levels.

The Pharmacogenomics Journal; <https://doi.org/10.1038/s41397-022-00280-w>

INTRODUCTION

Pharmacogenetics is a field of science focusing on the understanding of individual specific variable drug response caused by genetic diversity. The therapeutic response variability is a major challenge in drug prescription since, individual clinical responses and outcomes vary significantly. The response to most current medical therapies is modified by a variety of physiological, pathological, environmental, and genetic factors [1, 2]. Some genetic variants can lower treatment efficiency or increase the risk of adverse drug reactions. Overall, the genetic background of a patient is responsible for 20–30% of individual variability in drug response [3].

In support of the clinical application of pharmacogenetics, drug manufacturers submit labels for approval to regulatory agencies such as the European Medicines Agency (EMA) and the US Food and Drug Administration (FDA). In parallel, there are now published guidelines developed by expert working groups, such as the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium

(CPIC), the Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG), the Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety (CPNDS) and the French National Network of Pharmacogenetics (RNPGX) [4–7]. PharmGKB (the Pharmacogenetics Knowledge Base) aggregates the recommendations and labels from the CPIC, DPWG and CPNDS to provide a classification for all known variants [8]. Their classification is hierarchized by levels of evidence, from level 1A when a variant-drug combination has been proven with strong scientific evidence, to level 4 when it is based on few case reports.

Epileptic encephalopathies are a group of severe childhood epilepsy disorders for which genetic origins can often be identified. More than 60 different genes have been associated with such disorders, 30 of them following autosomal dominant inheritance with de novo variants but recessive or X-linked variants, mosaicism, and copy number variants also contribute [9–11]. The implementation of exome sequencing (ES) for the diagnosis of rare and heterogeneous mendelian disorders permitted a diagnostic yield of >40%, making ES by far the most powerful individual diagnostic

¹UMR1231 GAD, Inserm, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France. ²Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic Génomique des Maladies Rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France. ³Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France. ⁴Université Paris-Saclay, Inserm, CESP, Team MOODS, Faculté de médecine, 94270, Le Kremlin-Bicêtre, Paris, France. ⁵CHU de Dijon, Centre d'Investigation Clinique, module plurithématique, 21000 Dijon, France. ⁶CHU de Dijon, Centre d'Investigation Clinique, module Epidémiologie Clinique/Essais cliniques, 21000 Dijon, France. ⁷Inserm CIC1432, 21000 Dijon, France. ⁸Centre de référence maladies rares « déficiences intellectuelles de causes rares », Centre de Génétique, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France. ⁹Centre de Référence maladies rares « Anomalies du Développement et syndromes malformatifs », Centre de Génétique, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France. ¹⁰Inserm U1248, service de pharmacologie et toxicologie, université de Limoges, CHU de Limoges, F-87042 Limoges, France. ✉email: simon.verdez@chu-dijon.fr; yannis.duffourd@u-bourgogne.fr

Received: 3 June 2021 Revised: 28 April 2022 Accepted: 9 May 2022
Published online: 19 May 2022

test for such conditions [12–14]. Beyond the diagnosis of Mendelian disorders, the sequencing of individual genomes can also be used to detect variants that are potentially relevant for other applications, including preventive and predictive medicine. In a study of the Mayo clinic, 91% young patients with neurological involvement had at least one pharmacogenetic variant allele reported with ES [15].

Antiepileptic drugs have a long history of efficacy, they were first used in the mid-20th century and are still commonly prescribed today [16]. The principal mechanisms of action include sodium channel blockade, potentiation of γ -aminobutyric acid activity, calcium channel blockade, antagonism of glutamate at N-methyl-D-aspartate receptors or α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid. Phenytoin and carbamazepine, two sodium-channel blockers, are among commonly used antiepileptic medications that can lead to drug-related cutaneous adverse reactions, such as Stevens-Johnson syndrome [17]. However, these reactions can be predicted in many cases by human leukocyte antigen (HLA) genotyping [18–20]. Most prescribed antiepileptic drugs are metabolized by the enzymes of the cytochrome P450 (CYP) superfamily [21]. CYP genes are known to be highly polymorphic, leading to the production of enzymes with different kinetic parameters [22, 23]. Depending on the single nucleotide variants (SNV) or copy number variations (CNV) detected in a defined gene, patients can be classified as ‘poor’, ‘intermediate’, or ‘extensive’ metabolizers [24]. However, a significant portion of CYP alleles have an unknown function, and the consequences can therefore not be interpreted.

To evaluate the interest of pharmacogenetic information related to epilepsy that can be obtained in ES data, we designed an “in house” pipeline to extract variants of the PharmGKB database that we applied to a cohort of patients with epilepsy. Then, we analysed the clinical records of phenytoin-treated patients with relevant pharmacogenetic variants.

MATERIALS AND METHODS

List of pharmacogenetic variants related to epilepsy

The list of pharmacogenetic variants-drug combination was developed using the PharmGKB database for genes implicated in pharmacokinetics of antiepileptic drugs, pharmacodynamics of antiepileptic drugs or adverse drug reaction involving antiepileptic drugs. We separated the variants-drug combinations into two groups, those corresponding to SNV or short insertion or deletion (indels) in classical pharmacogenes and those corresponding to HLA alleles (allele-drug combinations). SNV and indels were related to a list of 28 genes of interest showing 81 variant-drug PharmGKB combinations, 2 of level 1A, 8 of level 2A, 5 of level 2B and 66 of level 3 (Table S1). For HLA alleles, we selected 2 genes HLA-A and HLA-B with 29 allele-drug combinations, including 3 of level 1A, 2 of level 2A and 24 of level 3 (Table S2).

Cohort

We conducted a retrospective analysis on a cohort from Dijon university hospital, which has been previously described [13, 25]. The cohort comprised a large majority of children and Caucasians presenting with intellectual disability or multiple congenital anomalies. At the time of the analysis, in April 2018, this cohort contained 231 patients that benefited from clinical exome sequencing for research or diagnosis in a context of developmental abnormalities, a phenotype description (Human Phenotype Ontology) was provided on phenome central. These patients had a clinical record in the genetic clinic of Dijon University Hospital. 90/231 patients were retained for the analysis because the term “seizures” was mentioned. The majority of patients were born after the 2000s (73%). All patients/parents have signed a non-opposition for research use of data as part of their informed consent and the local ethical committee approved this study (Comité de Protection des Personnes, CPP, number DC2011–1332).

Bioinformatics analysis from ES analysis

After performing our usual procedures for ES, bioinformatic analysis, and variant annotation [13], a newly created pipeline was used for the

pharmacogenetic variants. We reused alignment file (reference: GRCh37/hg19) and variant calling file from usual pipeline. This pipeline consisted of three steps: we annotated SNVs of interest using Snpsift [26], next, we performed HLA-genotyping with HLAScan [27], and then finally we created an HTML file for the variant interpretation, containing the related drug, affected gene, rsID from dbSNP, genomic position and PharmGKB level. The Pipeline code is available at the following link: <http://gitlab.gad-bioinfo.org/gad-public/pharmAnnot/tree/public>.

After variant extraction, we analyzed individual medical records of patients with level 1A/1B variants to determine how many patients had received drugs impacted by these variants. In case of patients with variant received drugs, we also extracted medical records for patients with no level 1A/1B variants who have received drugs in order to constitute a control group. In these cases, we extracted clinical and biological data, including drug plasma level concentration when available. In particular, in the cases where a variant was expected to decrease drug metabolism and lead to adverse drug reactions, we searched for reactions of this type in the clinical history. In the cases where a variant was expected to lead treatment resistance, we looked for changes in treatment.

We also analysed level 1A/1B variants by detecting multi allelic variants, when possible, to determine whether the patient had a ‘poor’, ‘intermediate’, ‘normal’, ‘rapid’ or ‘ultra-rapid metabolizer’ profile. In order to establish genotype and metabolizer status, we applied CPIC recommendations [24], we also added one column with hg19 coordinates. (Table S4)

All variants with a medication-related side effect were submitted to ClinVar: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>.

RESULTS

Bioinformatic results

The 90 consecutive probands who had undergone ES analysis for epileptic were enrolled in this study. A large majority of the children were Caucasian, and a third were included in a previously published report [25].

We extracted 51 SNV mentioned in PharmGKB variant-drug combinations these SNV corresponded to 97.5% (79/81) of variant-drug combinations. For variant-drug combinations detected, two were of level 1A/1B, 4 of level 2 and 45 of level 3. In this cohort, 26 (28.8%) patients carried at least one level 1A/1B variant, 71 (78.8%) at least one level 2 variant, and 90 (100%) at least one level 3 variant (Figure S1). The only level 1A/1B combination discovered in the cohort was the CYP2C9 gene and phenytoin. (Table S1).

Regarding the HLA genes, we identified a total of 360 alleles for HLA-A and HLA-B. Four patients carried a level 1 allele-drug combinations, 3 carried a level 2 and 74 a level 3. Three antiepileptic drugs were affected by these variants: carbamazepine, oxcarbazepine and lamotrigine. HLA-A*31:01:02 was the only allele with a level 1 annotation detected in our cohort (Table S2).

Patients’ Predicted phenotypes and treatment

In order to determine genotype for CYP2C9, we reused previous work from CPIC adapted to GRCh37/hg19 (Table S4). With our cohort, 15 patients were heterozygous for CYP2C9*2 (rs1799853, NC_000010.10:g.96702047 C > T), 10 patients were heterozygous for CYP2C9*3 (rs1057910, NC_000010.10:g.96741053 A > C), one patient was a compound heterozygote for CYP2C9*2 and CYP2C9*3. Minor allele frequencies were comparable to the frequencies reported in public databases (CYP2C9*2: 8% and CYP2C9*3: 6%) (Table S1). Among the 90 patients in the cohort, 19 were prescribed phenytoin and 4/19 were carriers of a PharmGKB level 1 variant for CYP2C9 (NC_000010.10:g.96702047 C > T or NC_000010.10:g.96741053 A > C) (Fig. 1) (Table S3). None of these 4 patients were homozygous or compound heterozygous for the defective CYP2C9*2 and CYP2C9*3. Two patients had heterozygous status for CYP2C9*2 and two other patients had heterozygous status for CYP2C9*3.

Four patients had an HLA-A*31:01:02:01 allele, but none were exposed to carbamazepine (Table S2).

Clinical findings

Our medical files analysis underlined that, though the standard protocols (one 10–23 mg/kg/30 min loading dose followed by 5 mg/kg/8 h maintenance dose) had been followed, the four patients with CYP2C9 variants had plasma phenytoin levels above the toxic threshold of 20 mg/L (Table 1). We also extracted plasma phenytoin levels from the clinical files of patients with no CYP2C9 variant ($n = 15$). Among them, one presented a toxic plasma concentration while being treated with a standard protocol. In 3 other cases, the toxic plasma concentrations were apparently related to multiple loading doses or high maintenance dose. In few patients ($n = 1$), the information was missing (Table S3).

Patient PED3668.1 was a newborn hospitalized in neonatal intensive care unit (ICU) shortly after birth for repeated clonic seizures. A second episode of left upper limb abnormal movements and hypotonia led to the initiation of phenobarbital at a

maintenance dose of 10 mg/kg. On day 4, a new episode occurred coinciding with the discontinuation of phenobarbital. A loading dose of fosphenytoin was initiated (10 phenytoin equivalent (PE) mg/kg/30 min) associated with phenobarbital. From day 4 to day 7, the child was subject to daily relapses. These episodes presented as tonic-clonic seizures with sudden loss of contact, generalized hypertonia, desaturation and cyanosis followed by clonic seizures and finally, generalized hypotonia. Treatment was reinforced on day 7 with the introduction of sodium valproate at 30 mg/kg/day and phenobarbital at 10 mg/kg alongside a maintenance dose of fosphenytoin (5 PE mg/kg/8 h). On day 12, an attempt to wean from fosphenytoin resulted in the relapse of seizures episodes with desaturations conducting to the reintroduction of fosphenytoin at 5 PE mg/kg/8 h. Then, fosphenytoin was switched for an oral form at 3 mg/kg/day on day 20. Unfortunately, on the next day the infant was subject to five crises with hyper-extension of the head, deviation of the gaze, convulsions followed by deep desaturation requiring manual resuscitation. A new loading dose of fosphenytoin (15 PE mg/kg) was administered and on day 22, a maintaining dose of 5 mg/kg/8 h was introduced. On day 28, fosphenytoin was lowered at 5 PE mg/kg/12 h. On day 30, a second oral switch was attempted with phenytoin at 3,5 mg/kg/8 h, lowered at 3.5 PE mg/kg/12 h 14 days later regarding blood concentration of 32,7 mg/L (Fig. 2A). Exome sequencing revealed a predicted pathogenic de novo variation in *KCNQ2* gene (NM_004518.4:c.637 C > T, p.(Arg213Trp)) and a heterozygous variant in *CYP2C9* (NC_000010.10:g.96702047 C > T) corresponding to CYP2C9*2 allele.

Patient PED1924.1 was delivered by emergency caesarian-section due to metrorrhagia and presented with respiratory distress and abnormal clonic movements with flexion spasms 15 min after birth. During the hospital stay, he had several episodes of severe tonic-clonic seizures with spasms in the four limbs. Fosphenytoin was initiated 5 days after birth with a loading dose of 10 PE mg/kg/30 min and a maintenance dose of 5 PE mg/kg/8 h, which was decreased to 2.5 PE mg/kg/8 h 2 days after initiation. Peak of phenytoin (25 mg/L) was reached on day 4 after initiation before the second perfusion (Fig. 2B). Neurological examination during extubation was extremely unfavorable with severe axial hypotonia, absence of archaic reflexes including the sucking reflex, absence of isolated mobilization of the limbs, tremors, segmental hypertonia and the absence of spontaneous opening of the eyes. ES analysis underlines no variations associated with the clinical manifestations, but it did reveal that the patient carried a heterozygous variant in *CYP2C9* (NC_000010.10:g.96741053 A > C) corresponding to CYP2C9*3 allele.

Patient PED3786.1 was admitted to our pediatric ICU at 3 years of age for tonic-clonic seizures with status epilepticus. During the first days of his stay, IV fosphenytoin was initiated with a first loading dose of 16 PE mg/kg/30 min, followed by a maintenance dose of 5 PE mg/kg/8 h was initiated. On day three, clinical examination revealed a slight balance disturbance when sitting, but without signs of cerebellar ataxia or vestibular syndrome which was consistent with a maximum concentration of 35 mg/L.

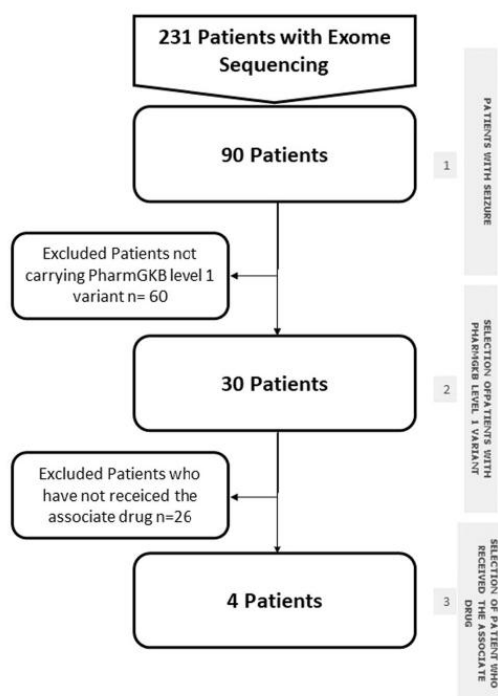


Fig. 1 Description of the study design. First, we created a cohort of 90 epileptic patients who had an exome sequencing analysis. In this cohort, 30 patients carry at least one PharmGKB level 1A variant. Then, we identified 4 patients with one PharmGKB level 1A variant and the associated drug.

Table 1. Clinical characteristics of the 4 probands with *CYP2C9* level 1A variants.

Clinical characteristics	PED3668.1	PED1924.1	PED3786.1	PED4523.1
Patient sex	Male	Male	Male	Male
Identification of a molecular cause	Yes	No	No	No
Patient weight	3 kg	2 kg	12,5 kg	22 kg
Plasma Creatinine	27 μmol/L	49 μmol/L	28 μmol/L	45 μmol/L
Phenytoin loading dose	15 mg/kg/30 min	10 mg/kg/30 min	16 mg/kg/30 min	23 mg/kg/30 min
Higher plasma concentration	32.7 mg/L	25.5 mg/L	35.1 mg/L	23.7 mg/L
CYP2C9 Genotype	CYP2C9*1/*2	CYP2C9*1/*3	CYP2C9*1/*3	CYP2C9*1/*2

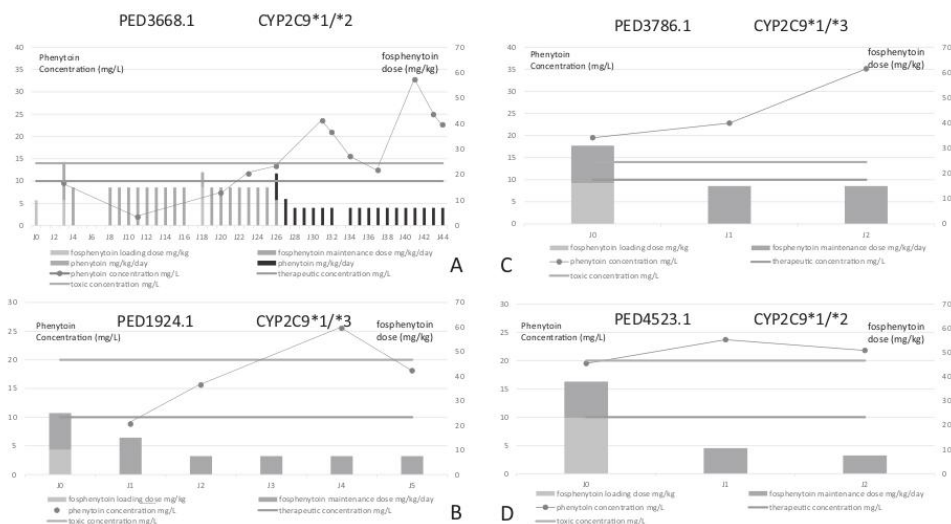


Fig. 2 Kinetics of phenytoin concentration in the 4 patients. Primary vertical axis representing the phenytoin concentration and secondary vertical axis representing the administered dose. A Patient PED3668.1 received loading dose and maintenance dose of fosphenytoin IV and oral phenytoin. **B–D** Patient PED1924.1 received only fosphenytoin IV during hospitalizations. The normal therapeutic range for phenytoin is between 10 and 14 mg/L for patients younger than 1 year. For patients older than 1 year, the normal therapeutic range for phenytoin is between 10 and 20 mg/L.

(Fig. 2C) These two factors, along with a lack of relapse of the seizures since the introduction of fosphenytoin motivated a switch to the oral therapy, leading to a full clinical recovery. On follow up, the patient was subject to further seizures and atactic-myoclonic epilepsy was diagnosed. ES was performed but did not identify any variant that could be associated with the patient's phenotype. However, a heterozygous variant in *CYP2C9* (NC_000010.10:g.96741053 A > C) was identified, corresponding to CYP2C9*3 allele.

Patient PED4523.1 was hospitalized in neonatal intensive care at 6-years of age for multiple seizures clustered over several days. His medical history included multi-drug resistant atactic-myoclonic epilepsy (Lennox-Gastaut-like) since the age of 2 years 8 months with 2 to 3 seizures per week despite treatment with topiramate 60 mg/day, lamotrigine 80 mg/day, rufinamide 400 mg/day, clonazepam 11 drops/day. During hospitalization, a loading dose of fosphenytoin of 23 PE mg/kg/30 min was followed by a maintenance doses of 5 PE mg/kg/8 h (once), 3.5 PE mg/kg/8 h (three administrations) and 2.5 PE mg/kg/8 h (once) in regard of phenytoin dosages. (Fig. 2D) On discharge, treatment included increased dose of rufinamide (600 mg/day) and clonazepam 21 drops/day, while topiramate doses were decreased to 45 mg/day. ES did not identify any variants associated with the patient phenotype, but it reveals the presence of heterozygous variant in *CYP2C9* (NC_000010.10:g.96702047 C > T) corresponding to CYP2C9*2 allele.

NC_000010.10:g.96741053 A > C and NC_000010.10:g.96702047 C > T were submitted to ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) under accession numbers SCV001441533 and SCV001441534.

DISCUSSION

Pangenomic sequencing analysis can provide a wealth of relevant pharmacogenetic information for clinical practice, paving the way for various advances in preventive and personalized medicine. On average, in each individual, we exposed sixteen variant-drug combinations per patients, most of it have no clinical effect.

In your cohort of 90 patients, we identified 3 pharmacogenetic variants annotated in PharmGKB with a high level of evidence (level 1A), 5 were of level 2, 33 were of level 3. In order to provide physicians with pharmacogenetic information that could potentially be useful in clinical practice, we voluntarily focused our analysis on level 1A variants.

Lists and criteria for grading the clinical impact of pharmacogenes has been proposed by several consortiums [4–7]. Since, each group has developed their own classification, the lists of variants and alleles may differ between pharmacogenetic experts. According to the PharmGKB classification, only level 1 variant-drug combination are relevant in clinical practice. The list of variants classified by PharmGKB and others will certainly be reevaluated over time.

In this study, we identified 3/122 variants with a high clinical impact. Two are located on *CYP2C9* and one on HLA-A. *CYP2C9* encodes an enzyme implicated in several drugs metabolism and would be responsible for 70–90% of the hepatic metabolism of phenytoin while *CYP2C19* is responsible for remaining percentage [28, 29]. However, the kinetics of phenytoin is not linear and dosage adjustment remains challenging. Despite this context, the CPIC recommends at least a 25% reduction of the starting maintenance dose for intermediate metabolizers and at least a 50% reduction of the starting maintenance dose for poor metabolizers. In pediatric patients, with close therapeutic drug monitoring [24, 30]. In our cohort, the four patients, who were retrospectively identified as intermediate metabolizers, exhibited overdosage in plasma concentrations (>20 mg/L) despite being treated with a standard protocol (fosphenytoin 15–23 PE mg/kg loading dose followed by fosphenytoin 5 PE mg/kg/8 h maintenance dose). Moreover, patient carrying one CYP2C9*3 allele appears to be more prone to achieve rapidly toxic plasma concentration of phenytoin; this is in line with the CPIC data which classifies CYP2C9*2 as resulting in higher enzyme activity as compared to CYP2C9*3 [23]. By contrast, one patient with no CYP2C9 variant was treated with a standard protocol and presented a toxic plasma concentration (Table S3). However, we

noticed in the clinical record a coadministration of metronidazole during phenytoin treatment. Metronidazole is a well-known CYP2C9 inhibitor which presumably explained the elevation of phenytoin plasma levels [31]. The drugs were administered in therapeutic emergency situation, in accordance with the indication for intravenous fosphenytoin, which is a commonly administered treatment. Patient PED4523.1 received a maintenance dose of 5 mg/kg/8 h which was adjusted twice in an effort to decrease plasma levels. Current knowledge suggests that phenytoin maintenance dose should be adjusted in according to patient genotype for CYP2C9. In an adult recent retrospective study, CYP2C9 genotypes were associated with clinically meaningful differences in patient management and treatment efficacy and toxicity [32]. Although no patient in our study exhibited phenytoin related side effects, the high concentrations of phenytoin (30–40 mg/L) generally used in emergency situations can hinder the distinction between iatrogenic side effects and clinical signs of the underlying pathology (ataxia, slurred speech). Moreover, fosphenytoin therapy was interrupted due to phenytoin concentration or lack of clinical improvement. To illustrate this point, the result is concordant with neonates and children literature, particularly with a case report concerning a 2-year-old patient treated by intravenous phenytoin with an initial-loading dose of 15 mg/kg for Status Epilepticus. A toxic concentration of 60 mg/L was detected 2 h after loading dose [33] associated with dizziness, nystagmus, ataxia and excessive sedation. Patient was homozygous for the CYP2C9*2 allele. Only a prospective study with larger cohorts could evaluate dosage recommendations for each type of metabolizer in children. Poor, and to a lesser, extent intermediate metabolizers represent subpopulations that would benefit the most from the individualization of phenytoin dosing based on CYP2C9 genotype. It is worth noting that developmental expression and functional activities of hepatic drug metabolic enzymes develop at different rates [34]. There is a high variability in CYP2C levels is observed during the first 5 months of life, with levels eventually approaching adult values somewhere between 5 months and 2 years of age [35]. Therefore, both the role of enzyme immaturity and pharmacogenetic variants were relevant for the 4 cases in our population.

Even if none of the patients in this cohort received carbamazepine concerned by at-risk HLA-B variants, this may be the case for their future disease management. In a predictive medicine context, it is important that clinicians could consider the increased risk of severe cutaneous adverse reactions an increased before introducing carbamazepine to patient with HLA-A:31:01:02 [36, 37]. Furthermore, Genotyping costs are one of the key parameters determining the cost-effectiveness of preemptive HLA testing, ES provide supplementary information at low-cost comparative to classic test [38].

Several limitations of this study are worth mentioning. ES only detects variants contained in the capture kit, and CNVs in noncoding regions cannot be detected. These limitations make the determination of some pharmacogene's genotype difficult. More specifically, we were not able to obtain data relative to duplications in the CYP2D6 gene or common variation in UGT1A1 gene promoter. This limitation should be partially resolved with genome Sequencing [39]. Nevertheless, this limitation had no impact on our study since there are no established interactions between these genes and antiepileptic medications. We were also unable to consider drug-drug interactions. Finally, by choosing to focus only on PharmGKB level 1A variants with strong clinical evidence, we likely overlooked other variants with lower clinical evidence, but which may be useful in certain contexts. Unfortunately, we can not rule on the clinical impact questions of level 2 and level 3, we need a higher number of patients in our cohort, in regard to these variants' frequencies (78,8% and 100%).

In conclusion, the knowledge of CYP2C9 genotype could help anticipating the clinical toxicity caused by high phenytoin plasma levels. Pangenomic sequencing can provide relevant information

S. Verdez et al.

about common pharmacogenetic variants in epileptic patients likely to be useful for their pharmacological management.

URL

PharmGKB: <https://www.pharmgkb.org/>

CPIC: <https://cpicpgx.org/>

EMA: <https://www.ema.europa.eu>

FDA: <https://www.fda.gov/>

The 100,000 Genomes Project Protocol v3, Genomics England: <https://www.genomicsengland.co.uk/100000-genomes-project-protocol>.

DATA AVAILABILITY

For data sharing requests, please contact SV or YD at simon.verdez@chu-dijon.fr or yannis.duffourd@u-bourgogne.fr respectively.

CODE AVAILABILITY

Code is available at the following link: <http://gitlab.gad-bioinfo.org/gad-public/pharmAnnot/tree/public>

REFERENCES

- Hesselink D. Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Therapeutics*. 2003;74:245–54.
- Relling MV, Evans WE. Pharmacogenomics in the clinic. *Nature* 2015;526:343–50.
- Sim SC, Kacevska M, Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenomics of drug-metabolizing enzymes: a recent update on clinical implications and endogenous effects. *Pharmacogenomics J*. 2013;13:1–11.
- Relling MV, Klein TE, Gammal RS, Whirl-Carrillo M, Hoffman JM, Caudle KE. The clinical pharmacogenetics implementation consortium: 10 years later. *Clin Pharmacol Ther*. 2020;107:171–5.
- Bank PCD, Caudle KE, Swen JJ, Gammal RS, Whirl-Carrillo M, Klein TE, et al. Comparison of the guidelines of the clinical pharmacogenetics implementation Consortium and the Dutch pharmacogenetics Working group. *Clin Pharm Ther*. 2018;103:599–618.
- Visscher H, Ross CJD, Rasekh SR, Barhdadi A, Dubé MP, Al-Saloo H, et al. Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety Consortium Pharmacogenomic prediction of anthracycline-induced cardiotoxicity in children. *J Clin Oncol*. 2012;30:1422–8.
- Picard N, Boyer JC, Etienne-Grimaldi MC, Barin-Le GC, Thomas F, Lorient MA. Pharmacogenetics-based personalized therapy: levels of evidence and recommendations from the French Network of Pharmacogenetics (RNPx). *Therapie*. 2017;72:185–92.
- Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM, Gong L, Sangkuhl K, Thorn CF, et al. Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine. *Clin Pharm Ther*. 2012;92:414–7.
- Thijs RD, Surges R, O'Brien TJ, Sander JW. Epilepsy in adults. *Lancet*. 2019;393:689–701.
- Orsini A, Zara F, Striano P. Recent advances in epilepsy genetics. *Neurosci Lett*. 2018;667:4–9.
- Symonds JD, Zuberi SM, Johnson MR. Advances in epilepsy gene discovery and implications for epilepsy diagnosis and treatment. *Curr Opin Neurol*. 2017;30:193–9.
- Bruel A-L, Levy J, Elenga N, Defo A, Favre A, Lucron H, et al. *INTU*-related oral-facial-digital syndrome type VI: A confirmatory report. *Clin Genet*. 2018;93:1205–9.
- Thevenon J, Duffourd Y, Masurel-Paulet A, Lefebvre M, Feillet F, El Chehadeh-Djebbar S, et al. Diagnostic odyssey in severe neurodevelopmental disorders: toward clinical whole-exome sequencing as a first-line diagnostic test. *Clin Genet*. 2016;89:700–7.
- Bruel A-L, Nambot S, Quéré V, Vitobello A, Thevenon J, et al. Increased diagnostic and new genes identification outcome using research reanalysis of singleton exome sequencing. *Eur J Hum Genet*. 2019;27:1519–31.
- Cousin MA, Matey ET, Blackburn PR, Boczek NJ, McAllister TM, Krusselbrink TM, et al. Pharmacogenomic findings from clinical whole exome sequencing of diagnostic odyssey patients. *Mol Genet Genom Med*. 2017;5:269–79.
- Blom S. trigeminal neuralgia: its treatment with a new anticonvulsant drug (G-32883). *Lancet*. 1962;279:839–40.
- Arif H, Buchsbaum R, Weintraub D, Koyfman S, Salas-Humara C, Bazil CW, et al. Comparison and predictors of rash associated with 15 antiepileptic drugs. *Neurology*. 2007;68:1701–9.

18. Karnes JH, Rettie AE, Somogyi AA, Huddart R, Fohner AE, Formea CM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2C9 and HLA-B Genotypes and Phenytoin Dosing: 2020 Update. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2020;96:542–8.
19. Locharekul C, Lopmlert J, Limotai C, Korkij W, Desudchit T, Tongkobpetch S, et al. Carbamazepine and phenytoin induced Stevens-Johnson syndrome is associated with HLA-B*1502 allele in Thai population. *Epilepsia.* 2008;49:2087–91.
20. Chung WH, Hung SI, Hong HS, Hsieh MS, Yang LC, Ho HC, et al. A marker for Stevens-Johnson syndrome. *Nature.* 2004;428:486.
21. Anzenbacher P, Anzenbacherová E. Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics: CML5. *Cell Mol Life Sci.* 2001;58:737–47.
22. Kidd RS, Curry TB, Gallagher S, Edeki T, Blaisdell J, Goldstein JA. Identification of a null allele of CYP2C9 in an African-American exhibiting toxicity to phenytoin. *Pharmacogenetics Genomics.* 2001;11:803–8.
23. Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J.* 2005;5:6–13.
24. Karnes JH, Rettie AE, Somogyi AA, Huddart R, Fohner AE, Formea CM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2C9 and HLA-B Genotypes and Phenytoin Dosing: 2020 Update. *Clin Pharmacol Ther.* 2020;109:302–9.
25. Thauvin-Robinet C, Thevenon J, Nambot S, Delanne J, Kuentz P, Bruel AL, et al. Secondary actionable findings identified by exome sequencing: expected impact on the organisation of care from the study of 700 consecutive tests. *Eur J Hum Genet.* 2019;27:1197–214.
26. Ruden DM, Cingolani P, Patel VM, Coon M, Nguyen T, Land SJ, et al. Using *Drosophila melanogaster* as a Model for Genotoxic Chemical Mutational Studies with a New Program, SnpSift. *Front Gene.* 2012;3:35.
27. Ka S, Lee S, Hong J, Cho Y, Sung J, Kim HN, et al. HLAScan: genotyping of the HLA region using next-generation sequencing data. *BMC Bioinforma.* 2017;18:1–11.
28. Giancarlo GM, Venkatakrishnan K, Granda BW, von Moltke LL, Greenblatt DJ. Relative contributions of CYP2C9 and 2C19 to phenytoin 4-hydroxylation in vitro: inhibition by sulfaphenazole, omeprazole, and ticlopidine. *Eur J Clin Pharm.* 2001;57:31–36.
29. Bajpai M, Roskos LK, Shen DD, Levy RH. Roles of cytochrome P4502C9 and cytochrome P4502C19 in the stereoselective metabolism of phenytoin to its major metabolite. *Drug Metab Dispos.* 1996;24:1401–3.
30. van der Weide J, Steijns LS, van Weelden MJ, de Haan K. The effect of genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenytoin dose requirement. *Pharmacogenetics.* 2001;11:87–91.
31. Kudo T, Endo Y, Taguchi R, Yatsu M, Ito K. Metronidazole reduces the expression of cytochrome P450 enzymes in HepaRG cells and cryopreserved human hepatocytes. *Xenobiotica.* 2015;45:413–9.
32. Fohner AE, Ranatunga DK, Thai KK, Lawson BL, Rischx N, Oni-Orisan A, et al. Assessing the clinical impact of CYP2C9 pharmacogenetic variation on phenytoin prescribing practice and patient response in an integrated health system. *Pharmacogenet Genomics.* 2019;29:192–9.
33. Dorado P, López-Torres E, Peñas-Lledó EM, Martínez-Antón J, Llerena A. Neurological toxicity after phenytoin infusion in a pediatric patient with epilepsy: influence of CYP2C9, CYP2C19 and ABCB1 genetic polymorphisms. *Pharmacogenomics J.* 2013;13:359–61.
34. Cresteil T, Beaune P, Kremers P, Celier C, Guengerich FP, Leroux J-P. Immunquantification of epoxide hydrolase and cytochrome P-450 isozymes in fetal and adult human liver microsomes. *Eur J Biochem.* 1985;151:345–50.
35. Koukouritaki SB, Manro JR, Marsh SA, Stevens JC, Rettie AE, McCarver DG, et al. Developmental Expression of Human Hepatic CYP2C9 and CYP2C19. *J Pharm Exp Ther.* 2004;308:965–74.
36. McCormack M, Alfirevic A, Bourgeois S, et al. HLA-A*3101 and carbamazepine-induced hypersensitivity reactions in Europeans. *N. Engl J Med.* 2011;364:1134–43.
37. Yip VL, Marson AG, Jorgensen AL, Pirmohamed M, Alfirevic A. HLA genotype and carbamazepine-induced cutaneous adverse drug reactions: a systematic review. *Clin Pharm Ther.* 2012;92:757–65.
38. Zhou Y, Krebs K, Milani L, Lauschke VM. Global Frequencies of Clinically Important HLA Alleles and Their Implications For the Cost-Effectiveness of Preemptive Pharmacogenetic Testing. *Clin Pharmacol Ther.* 2021;109:160–74.
39. Xue Y, Ankala A, Wilcox WR, Hegde MR. Solving the molecular diagnostic testing conundrum for Mendelian disorders in the era of next-generation sequencing: single-gene, gene panel, or exome/genome sequencing. *Genet Med.* 2015;17:444–51.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the University of Burgundy Centre de Calcul (CCuB) for providing technical support and management of the informatics platform. This work was supported by grants from Dijon University Hospital, the ISITE-BFC (PIA ANR) and the European Union through the FEDER programs. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. The authors thank Suzanne Rankin from the Dijon University Hospital, Nicole Dorssers from simon fraser university and Cynthia Reichling for proofreading the manuscript.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

SV, PG, LF, NP and YD designed the study. SV, QT performed the clinical analysis. AV, FTMT, CP, interpreted exome data. FTMT, AV and CP performed the molecular laboratory work. SV, YD and ET performed the bioinformatics analysis. All the authors contributed to the writing and review of the paper.

COMPETING INTERESTS

The authors declare no competing interests.

ADDITIONAL INFORMATION

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41397-022-00280-w>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to Simon Verdez or Yannis Duffourd.

Reprints and permission information is available at <http://www.nature.com/reprints>

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

SUPPLEMENTAL DATA

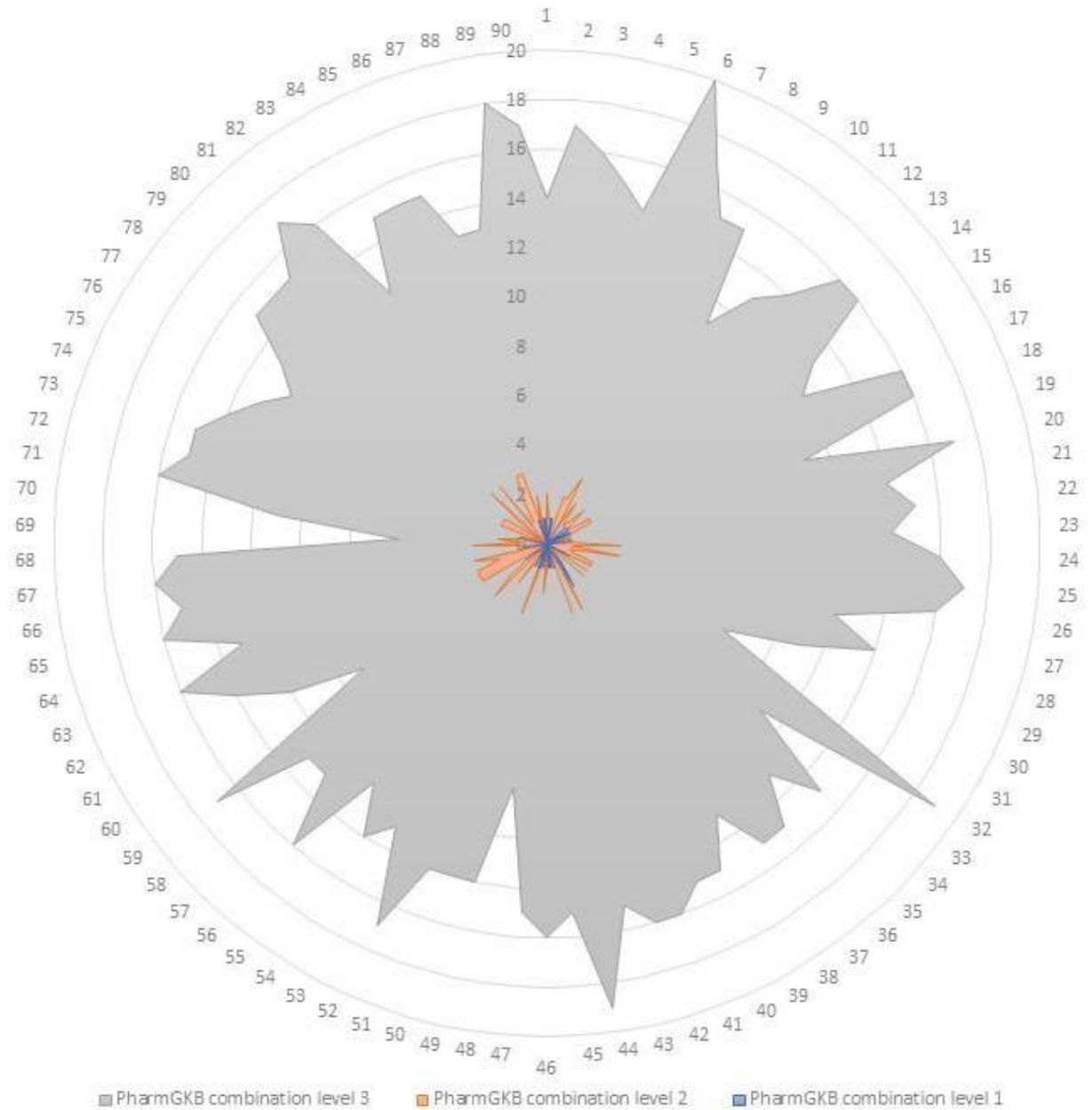


Figure S1: Radar chart distribution of pharmacogenomic variant-drug combination by patient for each PharmGKB level in our cohort. We found a high ratio of level 3 in comparison with level 2 and level 1.

Article 1

tableauSNV

Gene	Variant (DbSNP)	mean coverage	Variant (HGVS Nomenclature)	Drug	PharmGKB level	Number of heterozygote	Number of homozygote	Allele frequencies in our cohort
ABCB1	rs1045642	90	NC_000007.13:g.87138645A>C	phenytoin phenobarbital carbamazepine	3 3 3	40	30	0.55
			NC_000007.13:g.87138645A>G					
			NC_000007.13:g.87138645A>T					
	rs3789243	179	NC_000007.13:g.87220886A>G	carbamazepine	3	0	0	0
	rs1128503	175	NC_000007.13:g.87179601A>G	phenytoin carbamazepine	3 3	39	32	0.57
rs2032582	179	NC_000007.13:g.87160618A>C NC_000007.13:g.87160618A>T	carbamazepine	3	38	30	0.54	
ABCC2	rs4148386	106	NC_000010.10:g.101548468G>A	carbamazepine	3	0	0	0
	rs3740066	71	NC_000010.10:g.101604207C>G	carbamazepine	3	38	15	0.37
			NC_000010.10:g.101604207C>T					
	rs2273697	207	NC_000010.10:g.101563815G>A	oxcarbazepine carbamazepine	3 3	32	4	0.22
	rs717620	117	NC_000010.10:g.101542578C>T	carbamazepine	3	28	3	0.18
ABCG2	rs2231142	201	NC_000004.11:g.89052323G>C NC_000004.11:g.89052323G>T	lamotrigine	3	11	2	0.08
	rs3114020	0	NC_000004.11:g.89083666T>C NC_000004.11:g.89083666T>G					
BAG6	rs750332	21	NC_000006.11:g.31607050C>G NC_000006.11:g.31607050C>T	carbamazepine	3	35	47	0.71
CPS1	rs1047891	90	NC_000002.11:g.211540507C>A	valproic acid	3	42	8	0.32
CYP1A1	rs2606345	117	NC_000015.9:g.75017176C>A	phenobarbital	3	0	0	0
CYP2B6	rs3745274	146	NC_000019.9:g.41512841G>A	valproic acid	3	42	8	0.32
			NC_000019.9:g.41512841G>T					
CYP2C19	rs72558186	87	NC_000010.10:g.96541756T>A	diazepam clobazam	3 2A	0	0	0
			NC_000010.10:g.96541756T>C					
	rs28399504	110	NC_000010.10:g.96522463A>G NC_000010.10:g.96522463A>T	diazepam clobazam	3 2A	0	0	0
	rs4244285	139	NC_000010.10:g.96541616G>A NC_000010.10:g.96541616G>C	diazepam clobazam	3 2A	28	2	0.17

Article 1

tableauSNV

	rs4986893	105	NC_000010.10:g.96540410G>A	diazepam clobazam	3 2A	0	0	0
	rs56337013	212	NC_000010.10:g.96612495C>T	diazepam clobazam	3 2A	0	0	0
	rs12248560	39	NC_000010.10:g.96521657C>A NC_000010.10:g.96521657C>T	diazepam clobazam	3 2A	0	0	0
	rs72552267	142	NC_000010.10:g.96535210G>A	diazepam clobazam	3 2A	0	0	0
	rs41291556	105	NC_000010.10:g.96535173T>C	diazepam clobazam	3 2A	0	0	0
CYP2C9	rs1799853	170	NC_000010.10:g.96702047C>T	valproic acid phenytoin	3 1A	15	0	0.08
	rs1934969	73	NC_000010.10:g.96748495A>T	phenytoin	3	0	0	0
	rs9332131	127	NC_000010.10:g.96709040del	phenytoin	3	0	0	0
	rs28371686	232	NC_000010.10:g.96741058C>A NC_000010.10:g.96741058C>G	phenytoin	3	1	0	0.005
	rs28371685	190	NC_000010.10:g.96740981C>T	phenytoin	3	0	0	0
	rs7900194	179	NC_000010.10:g.96702066G>A NC_000010.10:g.96702066G>C NC_000010.10:g.96702066G>T	phenytoin	3	0	0	0
	rs1057910	231	NC_000010.10:g.96741053A>C NC_000010.10:g.96741053A>G	valproic acid phenytoin	3 1A	11	0	0.06
	rs71486745	1	NC_000010.10:g.96695775_9669 5776TG	phenytoin	3	0	0	0
	rs1253936600	127	NC_000010.10:g.96709039A>G	phenytoin	3	0	0	0
	rs12782374	0	NC_000010.10:g.96695351G>A	phenytoin	3	0	0	0
EPHX1	rs2234922	135	NC_000001.10:g.226026406A>G NC_000001.10:g.226026406A>T	carbamazepine	2B	31	3	0.2
	rs1051740	170	NC_000001.10:g.226019633T>C	carbamazepine	2B	36	10	0.31
FLOT1	rs3909184	110	NC_000006.11:g.30699384G>C	carbamazepine	3	0	0	0
GABRA1	rs2279020	105	NC_000005.9:g.161322889G>A	carbamazepine	3	41	29	0.55
	rs2290732	1	NC_000005.9:g.161324898A>G NC_000005.9:g.161324898A>T	carbamazepine	3	0	0	0
HNF4A	rs2071197	201	NC_000020.10:g.43030435G>A	lamotrigine	3	0	0	0
HSPA1A	rs506770	67	NC_000006.11:g.31785228G>A	carbamazepine	3	30	55	0.77

Article 1

tableauSNV

	rs1043620	131	NC_000006.11:g.31783755T>A NC_000006.11:g.31783755T>C NC_000006.11:g.31783755T>G	carbamazepine	3	10	65	0.77
HSPA1L	rs2227956	108	NC_000006.11:g.31778272G>A NC_000006.11:g.31778272G>C NC_000006.11:g.31778272G>T	carbamazepine	3	23	62	0.81
LEMD2	rs2395402	8	NC_000006.11:g.33753673G>A NC_000006.11:g.33753673G>C	carbamazepine	3	0	0	0
LST1	rs986475	8	NC_000006.11:g.31556709A>G NC_000006.11:g.31556709A>T	carbamazepine	3	0	0	0
NMDA	rs1019385	1		valproic acid	3	0	0	0
POLG	rs3087374	141	NC_000015.9:g.89859994C>A	valproic acid	3	15	0	0.08
RALBP1	rs329017	207	NC_000018.9:g.9492196T>C	carbamazepine	3	0	0	0
SCN1A	rs3812718	106	NC_000002.11:g.166909544C>T	phenytoin carbamazepine	2B 2B	0	0	0
	rs2298771	97	NC_000002.11:g.166892788C>G NC_000002.11:g.166892788C>T	lamotrigine oxcarbazepine carbamazepine	3 3 3	33	40	0.62
SCN2A	rs17183814	117	NC_000002.11:g.166152389G>A	valproic acid phenytoin phenobarbital carbamazepine	3 3 3 3	3	1	0.02
	rs2304016	42	NC_000002.11:g.166168503A>G	phenytoin lamotrigine phenobarbital carbamazepine	3 3 3 3	0	0	0
SLC22A1	rs628031	149	NC_000006.11:g.160560845A>C NC_000006.11:g.160560845A>G	lamotrigine	3	47	30	0.59
UGT	rs1105879	141	NC_000002.11:g.234602202A>C	valproic acid	3	43	9	0.33
	rs6759892	128	NC_000002.11:g.234601669T>G	valproic acid	3	44	14	0.44
	rs2070959	128	NC_000002.11:g.234602191A>G	valproic acid	3	39	8	0.39
UGT1A4	rs2011425	252	NC_000002.11:g.234627608T>A NC_000002.11:g.234627608T>G	lamotrigine	2B	12	1	0.07
UGT2B7	rs28365063	158	NC_000004.11:g.69962610A>G NC_000004.11:g.69962610A>T	lamotrigine	3	21	5	0.17

Article 1

tableauSNV

UGT2B7	rs7668258	38	NC_000004.11:g.69962078T>A NC_000004.11:g.69962078T>A NC_000004.11:g.69962078T>A	lamotrigine	3	0	0	0
XBP1	rs2269577	1	NC_000022.10:g.29196757G>A NC_000022.10:g.29196757G>C	valproic acid	3	0	0	0

Supplementary Table 1: List of variant-drug combinations for SNV

Article 1

tableauHLA

Gene	Allele	Drug	PharmGKB level	Number of heterozygote	Number of homozygote	Allele frequencies
HLA-A	HLA-A*02:07:01	lamotrigine	3	0	0	0
	HLA-A*24:02:01:01	carbamazepine	3	13	0	0.07
	HLA-A*02:01:01:01	carbamazepine	3	29	3	0.19
	HLA-A*31:01:02	carbamazepine	1A	4	0	0.02
	HLA-A*33:03	lamotrigine	3	0	0	0
	HLA-A*11:01:01	carbamazepine	3	11	1	0.07
HLA-B	HLA-B*46:01:01	carbamazepine	3	1	0	0
	HLA-B*15:13:01	phenytoin	3	0	0	0
	HLA-B*15:18:01	carbamazepine	3	0	0	0
	HLA-B*59:01:01:01	carbamazepine	3	0	0	0
	HLA-B*48:04	oxcarbazepine	3	0	0	0
	HLA-B*58:01	lamotrigine	3	1	0	0
	HLA-B*07:02	carbamazepine	3	14	1	0.08
	HLA-B*15:11:01	carbamazepine	2A	0	0	0
	HLA-B*15:02	lamotrigine	3	0	0	0
			oxcarbazepine	1A		
			carbamazepine	1A		
			phenytoin	1A		
	HLA-B*38:02:01	oxcarbazepine	3	0	0	0
	HLA-B*51:01:01	phenobarbital	3	13	0	0.07
	HLA-B*13:02:01	oxcarbazepine	3	2	0	0.01
	HLA-B*44:03:01	lamotrigine	3	14	0	0.07
	HLA-B*15:01:01:01	oxcarbazepine	3	4	0	0.02
	HLA-B*13:01:01	phenytoin	3	0	0	0
	HLA-B*38:01:01	lamotrigine	3	0	0	0
	HLA-B*27:09	oxcarbazepine	3	0	0	0
	HLA-B*40:02:01	oxcarbazepine	3	4	0	0.02
	HLA-B*15:27:01	oxcarbazepine	3	0	0	0
	HLA-B*15:19	oxcarbazepine	3	0	0	0
	HLA-B*40:01:01	carbamazepine	2A	3	0	0.01

Supplementary Table 2: List of variant-drug combinations for HLA

Article 1

PED	Exome Result	Causal Gene	Last prescription	Others prescriptions	Key words in phenome central	CYP2C9 genotype	maximum concentration	loading dose	maintenance dose	comment
PED1323.1	Negative	None	Clonazepam valproic acid stiripentol Clobazam	midazolam diazepam fosphenytoin phenobarbital	Plagiocephaly Strabismus Seizures Severe global developmental delay Epileptic encephalopathy	CYP2C9 *1/*1	13,1 mg/L	non available	non available	injection was stopped (non response)
PED1312.2	Positive	SLC13A5	topiramate Vigabatrín Clobazam	valproic acid Clonazepam Levetiracetam fosphenytoin	Generalized tonic-clonic seizures Status epilepticus Febrile seizures Phonic tics	CYP2C9 *1/*1	18,3 mg/L	15 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	standard protocol
PED2037.1	Positive	ADCK3	carbamazepine Clonazepam	Vigabatrín topiramate fosphenytoin Levetiracetam diazepam	Epicanthus Prominent forehead Muscular hypotonia Toe clinodactyly Hypospadias Delayed speech and language development Seizures Gait disturbance Falls Steppage gait Myoclonic spasms Focal-onset seizure	CYP2C9 *1/*1	30.2 mg/L	15 mg/kg/30min	non available	maintenance dose are missing from history

Article 1

PED2234.1	Positive	PACS2	valproic acid	phenobarbital fosphenytoin	Narrow mouth Telecanthus Proptosis nystagmus Low-set ears Sparse and thin eyebrow Synophrys Sacral dimple Dextrocardia Muscular hypotonia of the trunk Global developmental delay Stereotypy Generalized-onset seizure Seizures	CYP2C9 *1/*1	20 mg/L	15 and 15 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	14 hours between two loading dose
PED3427.1	Negative	None	Levetiracetam Clonazepam	diazepam Vigabatrin fosphenytoin Phenobarbital	Visual impairment Tonic pupil Adducted thumb Infantile axial hypotonia Status epilepticus Frontal cortical atrophy Abnormal pyramidal sign Seizures	CYP2C9 *1/*1	15,4 mg/L	10 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	standard protocol
PED4432.2	Negative	None	Levetiracetam Clobazam valproic acid	Lacosamide Clonazepam diazepam fosphenytoin	Trigonocephaly High, narrow palate Atrial septal defect Scoliosis Arachnodactyly Behavioral abnormality Seizures	CYP2C9 *1/*1	Non available	non available	non available	injection was stopped (non response)

Article 1

PED4655.1	Positive	<i>SCN1A</i>	valproic acid Levetiracetam	fosphenytoin Clonazepam Midazolam	Seizures	<i>CYP2C9</i> *1/*1	39,8 mg/L	19 and 15 mg/kg/30min	non available	received two loading dose
PED4698.1	Positive	<i>TRAPCC1</i> <i>1</i>	Levetiracetam	fosphenytoin Clonazepam	Microcephaly (<-3SD) Delayed gross motor development Delayed speech and language development Seizures Stereotypy Cerebral cortical atrophy	<i>CYP2C9</i> *1/*1	4,4 mg/L	15 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	only one plasma dosing
PED1004.1	Positive	<i>MTOR</i>	Clobazam Lamotrigine Phenytoin	diazepam valproic acid Midazolam phenobarbital fosphenytoin	Seizures	<i>CYP2C9</i> *1/*1	32,3 mg/L	23 mg/kg/30min	7mg/kg/8h	high maintenance dose
PED5368.1	Positive	<i>PNPO</i>	valproic acid Levetiracetam Vigabatrin Clobazam fosphenytoin Midazolam	Seizures Delayed gross motor development		<i>CYP2C9</i> *1/*1	12,6 mg/L	16 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	standard protocol

Article 1

					Relative macrocephaly Short neck Downslanted palpebral fissures Retinopathy Low-set, posteriorly rotated ears Auricular pit Sparse and thin eyebrow Deep palmar crease Sparse hair Cerebral hemorrhage Pulmonic stenosis Left ventricular hypertrophy Bronchodysplasia Deep plantar creases					
PED2066.1	Positive	<i>SHOC2</i>		diazepam valproic acid Clonazepam Levetiracetam fosphenytoin	Infantile axial hypotonia Spontaneous hematomas Seizures	<i>CYP2C9</i> *1/*1	1,2 mg/L	non available	non available	Absence of data, only one dosing
PED4875.1	Positive	<i>PRUNE1</i>	Levetiracetam	midazolam phenobarbital fosphenytoin Clonazepam Vigabatrin	Epileptic encephalopathy Seizures	<i>CYP2C9</i> *1/*1	25,8 mg/L	15 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	Received METRONIDAZOLE in conjontion with phenytoin, otherwise standard protocol

Article 1

PED4690.1	Negative	None	carbamazepine topiramate Clobazam	phenobarbital Vigabatrin midazolam fosphenytoin Levetiracetam	Growth delay Visual impairment Global developmental delay Delayed speech and language development EEG abnormality Encephalitis Interictal EEG abnormality Epileptic encephalopathy	<i>CYP2C9</i> *1/*1	14,3 mg/L	15 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	standard protocol
PED1319.1	Negative	None	Vigabatrin valproic acid Phenytoin	Clonazepam Levetiracetam fosphenytoin nitrazepam	Delayed gross motor development Autism Behavioral abnormality Epileptic spasms Cerebral white matter atrophy Seizures	<i>CYP2C9</i> *1/*1	15,8 mg/L	15 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	standard protocol
PED4039.1	Negative	None	valproic acid Lacosamide Rufinamide	Levetiracetam Clonazepam fosphenytoin Ethosuximide	Agitation Generalized tonic-clonic seizures Absence seizure Inability to walk Atonic seizures EEG with focal spike waves Epileptic encephalopathy	<i>CYP2C9</i> *1/*1	15,1 mg/L	15 mg/kg/30min	10mg/kg/8h	high maintenance dose
PED3668.1	Positive	<i>KCNQ2</i>	sodium valproate Phenytoin	phenobarbital fosphenytoin Phenytoin	Laryngomalacia Gastroesophageal reflux Seizures Febrile seizures Moderate global developmental delay	<i>CYP2C9</i> *1/*2	32,7 mg/L	15 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	standard protocol

Article 1

PED3786.1	Negative	None	Levetiracetam	fosphenytoin	Abnormal facial shape Hypermelanotic macule Generalized joint laxity Language impairment Gait ataxia Generalized tonic-clonic seizures Status epilepticus Myoclonic atonic seizures	<i>CYP2C9</i> *1/*3	35,1 mg/L	16 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	standard protocol
PED4523.1	Negative	None	topiramate Clobazam valproic acid Lamotrigine	sodium valproate rufinamide Clonazepam	Delayed fine motor development Short attention span Generalized tonic-clonic seizures Generalized myoclonic seizures EEG with generalized spikes	<i>CYP2C9</i> *1/*2	23,7 mg/L	23 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	standard protocol
PED1924.1	Negative	None		fosphenytoin	Adducted thumb Neonatal hypotonia Generalized tonic-clonic seizures EEG abnormality Periventricular leukomalacia Brain atrophy Placental infarction	<i>CYP2C9</i> *1/*3	25,5 mg/L	10 mg/kg/30min	5mg/kg/8h	standard protocol

Supplementary Table 3: Characterization of 19 patients with phenytoin

Article 1

GENE:CYP2C9												
Nucleotide change per gene from http://www.pharmvar.org	-1766T>C	1A>G	55C>A	3572C>T	3573G>A	3608C>T	3623G>A	42548C>A	42568C>A	42599G>A	42614A>C	42615T>C
Effect on protein (NP_000762.2)	5' region	M1V	L19I	R132W	R132Q	R144C	A149T	P337T	S343R	E354K	I359L	I359T
Position at NC_000010.10 (Homo sapiens chromosome 10, GRCh37.p13)	g.96696674T>C	g.96698440A>G	g.96698494C>A	g.96702011C>T	g.96702012G>A	g.96702047C>T	g.96702062G>A	g.96740987C>A	g.96741007C>A	g.96741038G>A	g.96741053A>C	g.96741054T>C
Position at NC_000010.11 (Homo sapiens chromosome 10, GRCh38.p2)	g.94936917T>C	g.94938683A>G	g.94938737C>A	g.94942254C>T	g.94942255G>A	g.94942290C>T	g.94942305G>A	g.94981230C>A	g.94981250C>A	g.94981281G>A	g.94981296A>C	g.94981297T>C
Position at NG_008385.1 (CYP2C9 RefSeqGene)	g.3260T>C	g.5026A>G	g.5080C>A	g.8597C>T	g.8598G>A	g.8633C>T	g.8648G>A	g.47573C>A	g.47593C>A	g.47624G>A	g.47639A>C	g.47640T>C
rsID	rs9332094	rs114071557	rs67807361	rs199523631	rs200183364	rs1799853	rs754487195		rs750820937	rs749060448	rs1057910	rs56165452
CYP2C9 Allele												
*1	T	A	C	C	G	C	G	C	C	G	A	T
*2												
*3											C	
*4												C
*5												
*6												
*7			A									
*8	C											
*9												
*10												
*11												
*12												
*13												
*14												
*15												
*16												
*17												
*18												
*19											C	
*20												
*21												
*22												
*23												
*24										A		
*25												
*26												
*27												
*28												
*29												
*30												
*31												
*32												
*33					A							

Supplementary Table 4: Determination of CYP2C9*2 allele and CYP2C9*3 allele

Article 2: Detection of relevant pharmacogenetic information through exome sequencing in oncology

Article 2

Résumé de l'article

Selon le paradigme actuel, le cancer découle d'une modification de l'ADN ayant conduit une cellule à proliférer de manière anarchique. Durant le processus de prolifération par mitoses successives, les variations issues de la cellule mère sont alors transmises aux cellules filles. Au cours de la tumorigenèse, le matériel génétique de la tumeur va diverger fortement du reste des cellules de l'organisme et constituer une entité à part. Au cours des dernières décennies, une partie de la recherche s'est concentrée sur la caractérisation moléculaire des tumeurs. Les retombées de ces recherches ont conduit à l'utilisation de plus en plus massive du séquençage haut débit. Aujourd'hui, l'utilisation de la biologie moléculaire rentre systématiquement dans le calcul des facteurs pronostiques et préventifs ainsi que dans le traitement des cancers.

Notre cohorte est issue de l'étude EXOMA, étude analysant le génome de patient atteints de cancer solide en rechute ou résistant aux traitements. L'ensemble des patients sont porteurs d'une tumeur locale non opérable ou d'un cancer métastatique ayant progressé durant au moins une ligne thérapeutique. Ces patients ont reçu dans le cadre de leur cancer une ou plusieurs lignes de chimiothérapie, de traitement adjuvant et/ou de soins de support.

Au cours de ce travail nous avons constitué une liste de 8 gènes et de 66 variations de niveau 1 selon la liste PharmGKB détectables par séquençage d'exome. Ces variations couvrent 12 molécules communément prescrites dans le cadre de la prise en charge des cancers.

Après avoir effectué notre extraction et notre annotation, nous avons ajouté des outils supplémentaires au pipeline existant. Nous avons adapté le pipeline afin d'exécuter un génotypage du *CYP2D6*. Le génotypage du *CYP2D6* est réalisé grâce aux logiciels Stargazer (S. Lee et al., 2019) et xHMM (Fromer & Purcell, 2014) ; Stargazer donnant les prédictions des allèles pour une phase et xHMM détectant des délétions ou la présence d'une ou plusieurs duplications.

Article 2

Phénotype	Métaboliseur ultra-rapide	Métaboliseur normal	Métaboliseur intermédiaire	Métaboliseur lent	Inconnue
Activité prédit du <i>CYP2D6</i>	$x > 2.25$	$1.25 < x < 2.25$	$0 < x < 1.25$	0	n/a
Nombre de patients dans la cohorte	10	192	135	26	82
Fréquence observée	0.022	0.431	0.303	0.058	0.184
Fréquence théorique	0.035	0.510	0.379	0.060	0.0001

Tableau 3 : Fréquence observée du phénotype vis à vis du *CYP2D6*

Au cours de notre analyse, parmi les 8 molécules impliquées dans une combinaison gène/molécule, la moitié est exclue de l'analyse car aucun patient n'a reçu le traitement. Nous avons donc restreint notre liste à 2 gènes pour 4 molécules. Dans notre cohorte, 244 patients sont porteurs d'au moins une variation pharmacogénétique. Pour le gène *TPMT*, 39 patients portent au moins un variant, un patient pour *RYR1* ainsi qu'un patient pour *G6PD*.

La clairance de 5FU est estimée pour 88 patients, au sein de ces patients, 6 sont porteurs d'au moins un variant. Lorsque nous avons comparé les clairances de 5FU entre les patients porteurs d'un variant et ceux non-porteurs, nous avons observé une diminution significative de celle-ci. ($p=0.01$)

Après avoir déterminé les allèles du *CYP2D6* pour nos 445 patients, nous avons pu leur assigner un score d'activité. Nous avons ensuite constitué 3 groupes pour comparer la survenue d'effets indésirables attendus, un groupe de métaboliseurs lents ($n=26$), un groupe de métaboliseurs ultra-rapides ($n=10$), un groupe de métaboliseurs normaux ayant une activité égale à 2 soit une partie des métaboliseurs normaux ($n=78$). Les métaboliseurs intermédiaires et les métaboliseurs inconnus sont exclus de l'analyse. Les divergences pour ces deux populations montrent une faiblesse de la méthode avec une mauvaise prédiction pour ces deux populations.

Article 2

En comparant ces groupes, nous avons obtenu une proportion de patients ayant présenté l'effet secondaire attendu supérieur chez les patients porteurs de variations de niveau 1 pour le couple *CYP2D6*/opioïdes. Mais nous n'avons pas retrouvé de différence significative pour les couples *CYP2D6*/tamoxifène et *CYP2D6*/ondansétron.

	Proportion de patient avec effets secondaires	Proportion de patient sans effets secondaires	p-value
<i>CYP2D6</i> / ondansétron			
Groupe des métaboliseurs ultra-rapides	0,4	0,6	0,25
Groupe des métaboliseurs normaux	0,1	0,9	
<i>CYP2D6</i> / opioïdes			
Groupe des métaboliseurs lents	1	0	0,02
Groupe des métaboliseurs ultra-rapides	1	0	0,005
Groupe des métaboliseurs normaux	0,07	0,93	

Tableau 4 : Résultats statistiques pour 2 combinaisons gène/molécule impliquant le *CYP2D6*

Article 2

Discussion - perspectives

Grâce à l'extraction de l'information pharmacogénétique issue du séquençage haut débit d'exome, nous avons rétrospectivement mis en lumière l'intérêt clinique de cette information comme suggéré par d'autres auteurs (Caspar et al., 2021). Nous avons étudié 4 combinaisons gène/molécule(s) : *DPYD*/5FU, *CYP2D6*/Opiïdes, *CYP2D6*/Ondansétron et *CYP2D6*/Tamoxifène. Nous avons montré qu'il est possible d'extraire les variants d'intérêts pour le gène *DPYD*. Nous avons aussi déterminé le statut métaboliseur pour le gène *CYP2D6* pour chaque patient à partir des données issues du séquençage d'exome. Ensuite nous avons relevé la survenue d'effets indésirables en rapport avec ce statut métaboliseur.

DPYD et 5FU

Le génotypage du gène *DPYD* est une méthode qui a prouvé son efficacité dans la détection d'une partie des personnes déficientes pour la DPD (Henricks et al., 2018). Cependant, dans cette cohorte certains allèles déficients n'ont pas été détectés (*DPYD**3 et *DPYD**13) (Vreken et al., 1997). Cette situation peut être expliquée par les fréquences faibles dans les populations caucasiennes décrites dans les plus grandes cohortes. Une des limitations à détecter seulement les variants de niveau 1A selon PharmGKB est que seulement 17% à 42.5% des personnes déficientes pour la DPD sont détectées (Collie-Duguid et al., 2000; De Luca et al., 2022), en comparaison la fréquence des personnes déficientes pour la DPD se situe à 16% dans la population générale française avec le dosage de l'uracilémie alors que ce chiffre descend à 3% avec le génotypage (Gamelin et al., 2007, p. 200; Laures et al., 2022). De plus, d'autres mécanismes peuvent expliquer cette déficience en DPD comme la méthylation de la zone promotrice et d'autres variations sur d'autres gènes (*TYMS*, *CDAn*, *SLC22A7*) peuvent aussi augmenter le risque de présenter une toxicité au 5FU (Ezzeldin et al., 2005; Pellicer et al., 2017). D'autres méthodes existent pour la détection des patients déficients vis-à-vis de la DPD. La technique plus directe est le phénotypage de l'enzyme en calculant son activité. Seulement cette méthode est considérée comme laborieuse, dur à mettre en place et coûteuse (Van Kuilenburg et al., 2000). Ensuite, d'autres essais fonctionnels ont été développés pour identifier les déficient vis-à-vis de la DPD : l'activité de la DPD dans les cellules mononucléées du sang (Etienne et al., 1994) , le ratio dihydrouracile/uracile dans la salive ou les urines (Ciccolini et al., 2006; Lorient et al., 2018; Thomas

Article 2

et al., 2016), la détermination de l'uracilémie (Meulendijks et al., 2017) et les tests basés sur la mesure du ratio dihydrouracile/uracile par ingestion d'une dose d'uracile (van Staveren et al., 2016). Finalement, le test de référence retenu sera la mesure de l'uracilémie physiologique, même si l'approche combinant génotypage, uracilémie et ratio dihydrouracile/uracile reste la plus efficiente avec 83% de sensibilité et 84% (Boisdron-Celle et al., 2007) L'ES apporte les informations nécessaires au génotypage de *DPYD*, cette information n'est pas suffisante pour détecter l'ensemble des patients déficients mais elle peut être couplée à d'autres méthodes existantes telle que l'uracilémie pour améliorer la détection des patients déficient vis-à-vis de la DPD.

CYP2D6 et Opioides

Les opioïdes métabolisés par le *CYP2D6* sont connus pour avoir des effets différents selon les voies de métabolisation empruntées (Taylor et al., 2020). Nous observons que l'ensemble des métaboliseurs ultra-rapides et des métaboliseurs lents présentent un effet indésirable prédictible alors que seulement 14% des personnes ayant une activité prédite normale ont montré ces mêmes effets. Ce résultat était attendu vu les preuves du lien entre tramadol et *CYP2D6* (Crews et al., 2021). Il a été montré dans d'autres études que les personnes ayant le statut métaboliseur lent ou intermédiaire montraient une intensité de la douleur supérieure aux métaboliseurs normaux dans des conditions similaires (Smith et al., 2019; Zwisler et al., 2009). Ce résultat corrobore la forte proportion de patients résistants dans notre groupe de métaboliseur lent.

De l'autre côté du spectre, plusieurs cas ont été publiés montrant une corrélation entre la survenue d'effets indésirables en lien avec un statut métaboliseur ultra-rapide (Dalén et al., 1997; de Leon et al., 2003; Gasche et al., 2004). Une étude rétrospective fut conduite en Italie et montre un risque plus élevé d'effets indésirables pour les personnes ayant un statut métaboliseur ultra-rapide traité par codéine ou oxycodone (Dagostino et al., 2018).

CYP2D6 et antagoniste du 5-HT₃ (sétrons)

Pour le lien entre les médicaments antagonistes des récepteurs 5-HT₃ et le *CYP2D6*, nous n'avons pas pu observer une différence significative de proportion entre le groupe des métaboliseurs ultra-rapides et le groupe des métaboliseurs normaux. Cependant, il existe un fort lien entre épisode de vomissement et statut ultra-métaboliseur (Bell et al., 2017). Dans notre cohorte, nous avons étudié

Article 2

l'ondansétron, la seule molécule de la famille des sétrons majoritairement prescrite aux patients de notre cohorte. Les proportions obtenues pour le groupe des métaboliseurs ultra-rapide (0,40) et pour le groupe des métaboliseurs normaux (0,16) sont proches d'une autre étude (0,45 et 0,15 respectivement) (Candiotti et al., 2005). En considérant ce résultat, nous ne pouvons pas conclure à une différence entre ces deux groupes mais la tendance observée et la littérature suggèrent que le génotypage du *CYP2D6* pourrait prédire l'inefficacité des sétrons.

CYP2D6 et tamoxifène

Si nous regardons le tamoxifène, nous constatons que la génétique n'est pas la seule cause de la résistance au tamoxifène. Le génotypage du *CYP2D6* peut fournir des informations supplémentaires dans la décision clinique, mais dans cette étude, nous ne pouvons pas identifier ou exclure un impact du *CYP2D6* sur la récurrence de cancer du sein. Ce résultat peut être expliqué de différente façon, la taille de la cohorte insuffisante car le tamoxifène est de moins en moins prescrit, la difficulté à faire ressortir l'effet du phénotype (suivi des patients difficile, effet du génotype faible). Pour illustrer cela, bien que le rôle du *CYP2D6* dans le métabolisme du tamoxifène soit connu (Chang, 2012), d'autres études ne retrouvent pas cet effet au sein de leur cohorte (Neven et al., 2018; Sanchez-Spitman et al., 2019) Si l'on se place d'un point de vue descriptif, on remarque que la fréquence des patients métaboliseurs avec une rechute est deux fois plus élevée dans notre cohorte que dans la population générale. Dans les recommandations du CPIC, il est indiqué que les métaboliseurs lents ont entre 2 et 3 fois plus de risque d'avoir une rechute (Goetz et al., 2018).

Perspectives

Dans ce travail nous avons mis en place une méthode d'extraction de l'information pharmacogénétique en lien avec les traitements des tumeurs solides. Nous avons ensuite décrit 4 cas où l'information pharmacogénétique pourrait être utilisée. Cette information disponible grâce aux séquençages haut débit d'exome a demandé des efforts bioinformatiques pour en exploiter son contenu. Cette étude apporte des arguments supplémentaires pour l'augmentation de la liste des gènes pharmacogénétiques dans le cadre du traitement des tumeurs solides. Ensuite, pour les patients atteints de cancers solides ayant bénéficié d'un séquençage haut débit d'exome, la prise en compte des données pharmacogénétiques permet la prévention d'une partie des effets indésirables iatrogènes notamment

Article 2

pour les couples *CYP2D6*/opioïdes et *DPYD*/5FU. L'utilisation d'une liste restreinte de gènes comportant les combinaisons gène/molécules de niveau 1 permet de fournir un conseil pharmacogénétique concis et pertinent pour les patients porteurs d'un cancer solide. L'oncologie est la spécialité médicale la plus en pointe sur la médecine personnalisée. Le séquençage des gènes de prédiction et de prédisposition au cancer sont les indications les plus fréquemment prescrites (Freedman et al., 2018; Rodler et al., 2021). Cette discipline utilise massivement la technologie par panel de gènes avec une indication pour un panel. Les retombées de ce travail pourraient être l'incorporation des gènes pharmacogénétiques au sein des panels. Au même titre que la prédiction de la réponse aux traitements, la prévention des effets indésirables serait un plus dans la prise en charge des patients atteints de cancer solide.


Research Article

For reprint orders, please contact: reprints@futuremedicine.com

Pharmacogenomics



Detection of relevant pharmacogenetic information through exome sequencing in oncology

Simon Verdez^{*1,2} , Juliette Albuissou^{3,4}, Yanniss Duffourd^{1,2}, Romain Boidot^{3,4,5}, Manon Reda^{3,5,6}, Christel Chauvin-Robinet^{2,4,7}, Jean-David Fumet⁶, Sylvain Ladoire⁶, Sophie Nambot^{2,7}, Patrick Callier^{1,2}, Laurence Faivre^{2,4,7}, François Ghiringhelli^{3,4,5,6} & Nicolas Picard⁸

¹UMR1231 GAD, Inserm – Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France

²Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, 21000, France

³Platform of Transfer in Cancer Biology, Georges François Leclerc Cancer Center – UNICANCER, Dijon, 21000, France

⁴Genomic & Immunotherapy Medical Institute, Dijon, 21000, France

⁵Department of Tumour Biology & Pathology, Georges François Leclerc Cancer Center – UNICANCER, Dijon, 21000, France

⁶Department of Medical Oncology, Georges François Leclerc Cancer Center – UNICANCER, 1 rue Professeur Marion, Dijon, 21000, France

⁷Centre de Référence maladies rares “Anomalies du Développement et syndromes malformatifs,” Centre de Génétique, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, 21000, France

⁸Inserm U1248, Service de Pharmacologie et Toxicologie, Université de Limoges, CHU de Limoges, Limoges, 87000, France

*Author for correspondence: Tel.: +33 380 293 238; simon.verdez@chu-dijon.fr

Background: Germline sequencing of individual genomes can detect alleles responsible for adverse drug reactions (ADRs) in relation to chemotherapy, targeted agents, antiemetics or pain treatment. **Materials & methods:** To evaluate the interest of such pharmacogenetic informations, the authors retrospectively analysed genes known to have an impact on cancer therapy in a cohort of 445 solid cancers patients cohort. **Results:** Six patients treated with 5-fluorouracil carrying one *DPYD* variant classified as 1A showed decreased drug mean clearance ($p = 0.01$). Regarding *CYP2D6*, all patients ($n = 5$) with predicted *CYP2D6* poor or ultrarapid metabolizer status experienced adverse drug reactions related to opioid therapy. **Conclusion:** Genomic germline sequencing performed for theragnostic issues in patients with a solid tumor, can provide relevant information about common pharmacogenetic alleles.

First draft submitted: 28 June 2022; Accepted for publication: 15 August 2022; Published online: TBC

Keywords: *CYP2D6* • *DPYD* • exome sequencing • oncology • pharmacogenetics

Despite medical advancements in recent years, interindividual variability in the standard dose of a given drug remains a severe problem in medical oncology. Moreover, a significant portion of the variability in adverse drug reactions can be attributed to genetic factors through the modulation of drug metabolism [1]. The current level of knowledge mainly concerns the influence of genetic polymorphisms in drug-metabolizing enzymes.

Expert working groups, such as the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC), the Dutch Pharmacogenetics Working Group, the Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety and the French-speaking Network of Pharmacogenetics, have developed guidelines for clinical practice [2–4]. For the CPIC, more than 100 genes are pointed as having a consequence on therapy, but 28 are described in recommendations. This number shows the necessity to continue to exploit clinical data and improve the descriptions between genes and pharmacology. The Pharmacogenetics Knowledge Base (PharmGKB) aggregates the different recommendations and labels to classify all known situations in which genetic variants impact treatments [5]. PharmGKB classification is hierarchical by levels of evidence, from level 1A for the most substantial scientific evidence to level 4 for an unclear correlation between a drug and variants.

Fluoropyrimidine anticancer drugs, such as 5-fluorouracil (5-FU) and Capecitabine, are commonly prescribed to treat solid cancers. 5-FU is reasonably well tolerated, but a study from 1964 [6] reported that 15–30% of patients with dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency developed severe toxicity. This toxicity clinical presentation

Future
Medicine 

mimics a 5-FU overdose and includes myelosuppression, mucositis, stomatitis and diarrhea; up to 1% of patients develop life-threatening toxicity. The toxicity is mostly associated with the DPD enzyme deficiency [7]. The CPIC has suggested dosage recommendations for patients carrying homozygous or heterozygous genotypes for four *DPYD* variants. Clear data link the corresponding *DPYD* genotype to fluoropyrimidine toxicity: c.1905+1G>A, also known as *DPYD**2A; c.1679T>G, known as *DPYD**13 (p.Ile560Ser); c.557A>G, known as *DPYD**5; c.2846A>T (p.Asp949Val); and the so-called "HapB3" tagged with c.1129-5923C>G [8]. The determination of the DPD phenotype has improved the performance of an upfront test to identify patients at risk of severe, potentially fatal fluoropyrimidine-associated toxicity. However, it is considered technically and logistically challenging, laborious and expensive [9]. Different functional assays have been developed to identify subjects with DPD deficiency: assay of DPD activity in mononuclear blood cells [10], plasma dihydrouracil/uracil ratio determination in saliva or urine [11–13], determination of plasma uracil alone [14] and tests based on the measurement of the dihydrouracil/uracil ratio after ingestion of a test dose of uracil [15]. An alternative test has also been developed, consisting of the administration of a low test dose of 5-FU followed by the measurement of plasma concentrations of 5-FU to calculate individual pharmacokinetic parameters and adjust the therapeutic dose [16,17].

CYP2D6 is another enzyme of interest, and its genotyping is a challenge, owing to the gene highly polymorphic nature [18]. Over 130 haplotypes have been defined for *CYP2D6*, some of them involving gene conversion with its nearby nonfunctional but highly homologous paralog, *CYP2D7* [19]. Despite the difficulties in properly analyzing the gene, knowing a patient's genotype is highly valuable. This enzyme is involved in the metabolism of many therapeutic classes such as anticancer, antiemetic, cardiovascular, psychoactive and pain drugs [20].

It is common to prescribe opioid analgesics for pain management, and *CYP2D6* is involved in metabolizing opioids (e.g., tramadol, oxycodone, hydrocodone and codeine). *CYP2D6* duplication has been associated with a higher concentration of morphine in patients receiving codeine [21]. Conversely, poor metabolizers show decreased analgesia [22], and the potential benefit of *CYP2D6* genotyping in identifying patients with a higher risk of ineffective analgesia or adverse drug reaction is a matter of concern [23].

A *CYP2D6* duplication is associated with a higher metabolism and clearance of S-ondansetron, which results in a lower area under the plasma concentration–time curve [24]. A decreased antiemetic effect in ondansetron when used for postoperative or chemotherapy-induced nausea and vomiting has been observed in *CYP2D6* ultrarapid metabolizers.

Another example of the *CYP2D6*'s impact on therapy is Tamoxifen. This drug reduces the annual breast cancer death rate by a third. However, the response is variable, and up to 33% of patients may not benefit from tamoxifen treatment [25]. It is accepted that only 4-OH-tamoxifen and endoxifen have significant antiproliferative activity [26]. The *CYP2D6* genotype was found to explain 34–52% of the variability in absolute endoxifen plasma concentrations [27]. The evidence is considered uniformly strong that *CYP2D6* poor metabolizers have lower plasma endoxifen concentrations among patients taking adjuvant tamoxifen compared with *CYP2D6* normal metabolizers, leading to a higher risk of cancer relapse [28].

In this article, the authors evaluate the potential of germline exome sequencing to get relevant pharmacogenetic information related to oncology. They selected two genes associated with five drugs and retrospectively identified cases in which pharmacogenetic information impacted therapeutic management.

Materials & methods

Patients

The authors conducted a retrospective analysis of genetic data from a cohort of patients analysed in Centre Georges-François Leclerc previously described [29]. The patients were enrolled in the EXOMA trial (NCT02840604), which involved somatic and germline exome sequencing for theragnostic purposes. Initially, exome sequencing was performed for patients with advanced or metastatic cancers to evaluate the possibility of personalized treatment. All patients were treated for their cancer and the authors collected treatment data from medical records until October 2020. Most patients presented with breast (n = 95), colorectal (n = 66) or pancreatic cancer (n = 63) [29]. Most common solid tumor is adenocarcinoma (73.4%), 87.4% patients have a metastatic status at inclusion and 60% have received at least 3 lines of chemotherapy [29]. Chemotherapy and concomitant treatments were available in a dedicated database, and side effects were collected from patients' medical records. All patients provided signed informed consent for the trial, including genomic analyses. The trial protocol was approved by an institutional review committee and done following the Declaration of Helsinki. Consort checklist was used to report the study.

Selection of genes & variants related to oncology

The PharmGKB was used to extract a list of pharmacogenetic level 1A variants [5]. The authors examined genes involved with the pharmacokinetics, pharmacodynamics and adverse drug reactions of cytotoxic chemotherapy and adjuvant treatment of solid tumors. They selected a list of 66 PharmGKB level 1 variants that were detectable with exome sequencing, related to eight genes and 12 drugs prescribed in oncology (Supplementary Table 1). Only variants identified by our exome capture kit and predicted impact on drugs prescribed to the EXOMA cohort patients were analysed (Figure 1).

Bioinformatic analysis & genotyping

After performing the usual procedures for ES, bioinformatic analysis and variant annotation [30], the authors used a dedicated pipeline for the pharmacogenetic variants. They reused the alignment file (reference: GRCh37/hg19) and variant calling file from a usual pipeline [31]. They used three tools: annotation of single nucleotide variant using SnpSift [32]; insertions and deletions calling using xHMM; and Stargazer v1.0.8 [33] for *CYP2D6* genotypes. Each patient was then classified as a poor metabolizer (PM), an intermediate metabolizer (IM), a normal metabolizer (NM), an ultrarapid metabolizer (UM) or an indeterminate metabolizer [19].

The authors used the PharmGKB and the Single Nucleotide Polymorphism Database [34] to determine the coordinates of *DPYD* variants.

DPYD & *CYP2D6* allele interpretation

Concerning *DPYD* analysis, the authors performed a one-step analysis of variant–drug combinations known to be involved in 5-FU metabolism.

For *CYP2D6*, the authors performed the analysis in three steps. First, after the classification of patients, they analyzed the proportions of each metabolizer status in patients who had received tamoxifen. Second, the authors split the study cohort into five groups according to metabolizer status and excluded two groups from the analysis. The first group was composed of patients with *CYP2D6* activity superior to 2.25; this group was called the UM group. The second group included patients with *CYP2D6* activity predicted as null, called the PM group. The last group was composed of patients with *CYP2D6* activity equal to 2, called the NM group and corresponding to some patients with NM status. Patients with intermediate *CYP2D6* metabolizer status and patients with unknown *CYP2D6* metabolizer status were excluded (Figure 2). Third, the authors assessed two variant–drug combinations: the *CYP2D6* genotype involved in the prevention of chemotherapy-induced vomiting with 5-HT₃ receptor antagonist and the efficacy and safety of opioid metabolized by cytochrome P450 2D6 (Figure 2).

5-FU pharmacokinetics

The 5-FU plasma concentrations of patients treated with this drug were obtained from a previous study [35], or routine analyses in the same laboratory and same protocol as published patients. The authors did no additional dosage. The therapeutic follow-up included a blood sample analysis to determine 5-FU exposure during the first three chemotherapy cycles. To limit the impact of the circadian variability of DPD activity, blood samples were taken between 8 and 10 a.m. the day after the beginning of 5-FU infusion. The authors determined plasma 5-FU concentrations using liquid chromatography, and UV detection was performed at 265 nm. They estimated the lower limit of quantification at 30 µg/l.

Multiplying the steady-state 5-FU concentration by the infusion duration (46 h) yielded the area under the curve (AUC) versus time of 5-FU infusion. Finally, the authors calculated the clearance of 5-FU by dividing the dose of 5-FU by the AUC of the 5-FU infusion.

Clinical data interpretation

Concerning 5-FU therapy, the authors screened the medical reports of patients carrying a *DPYD* variant expected to decrease drug metabolism. They compared the average individual 5-FU plasma concentration of these patients with the average 5-FU plasma concentration of other patients.

For *CYP2D6* and 5-HT₃ receptor antagonists and opioid therapy, the authors analyzed the medical records of all treated patients, specifically searching for expected reactions in the patients' clinical history for each allele–drug combination. Common reactions were chemotherapy-induced vomiting and nausea for the 5-HT₃ receptor antagonists; the authors evaluated the apparition of vomiting (Common Terminology Criteria for Adverse Events v5.0) during inter-cure or hospitalization. Typical reactions for opioids (tramadol, codeine and oxycodone) were

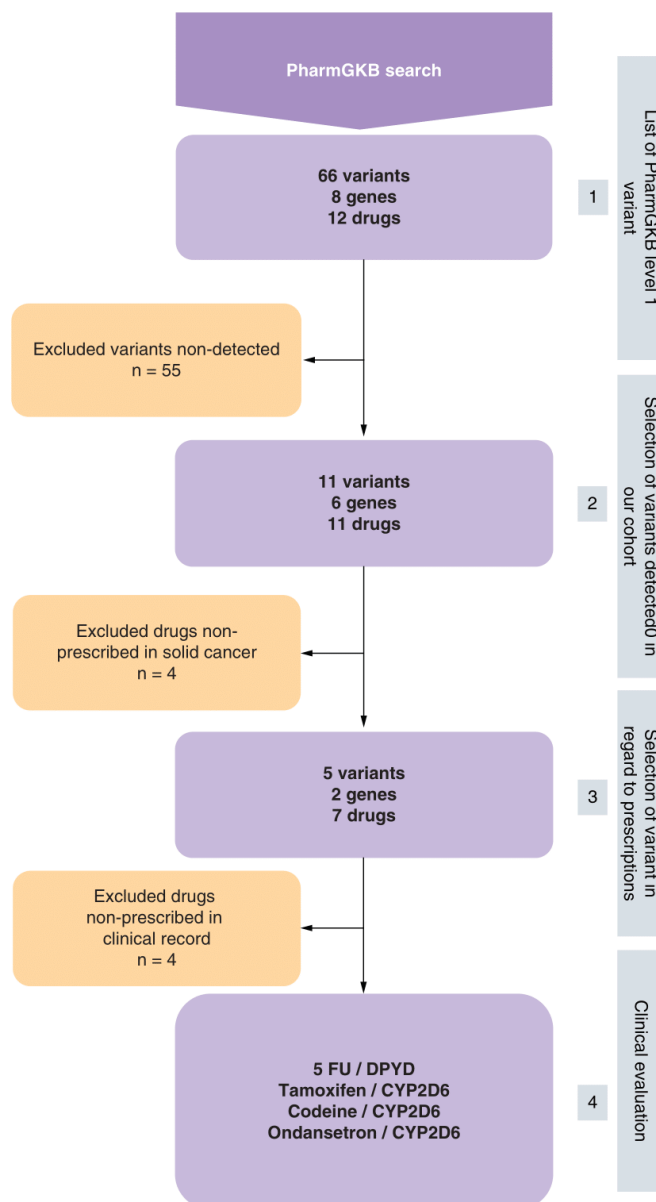


Figure 1. Flowchart showing the steps in filtering gene–drug combinations for the EXOMA cohort.

the notification of intolerance and resistance in the clinical history. Intolerance was evaluated by the terms “allergy,” “intolerance” and “not supporting” in a clinical record. Resistance was evaluated by the terms “ineffective” and “resistance” or the introduction of other analgesics to address the inaction of the drug. Only sentences in connection with tramadol, codeine or oxycodone were extracted. All sentences were extracted from clinical reports and subsequently translated. All these sentences were notified by medical oncology physicians (professor to resident).

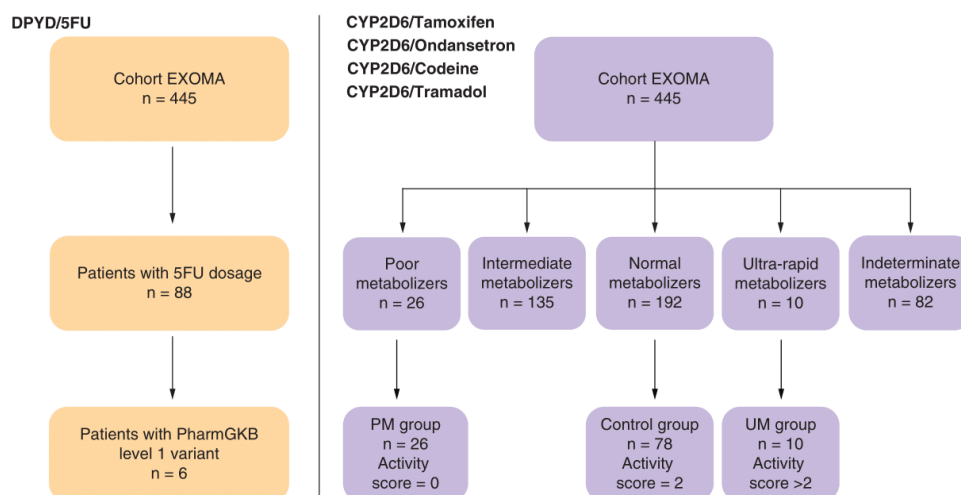


Figure 2. Decision tree for grouping patients according to their metabolizer status.

For *CYP2D6* and tamoxifen, the authors extracted the type and duration of hormone therapy and determined the *CYP2D6* genotypes in patients who had received tamoxifen therapy before EXOMA inclusion. After prophylactic tamoxifen, the authors analysed the patients included in EXOMA, as patients with relapse of their cancers [25]. The patients were classified into five genotype groups (PM, IM, NM, UM or indeterminate metabolizer). Assuming that patients with null activity could be overrepresented in the EXOMA cohort, the authors compared the proportion of patients who were PMs with those in the overall population [29].

Statistical methods

To evaluate 5-FU side effects, the authors calculated the average 5-FU mean clearance for each patient. They used the *t*-test to assess the mean clearance comparison.

Concerning *CYP2D6*, the proportions between different metabolizers and populations were compared. In addition, the Fischer exact test was used to assess the effect of the *CYP2D6* genotype on therapy.

For all statistical measures, the authors used R v3.4.3, the *t*-test and the Fischer exact test. The level of statistical significance was set at $p = 0.05$.

Results

The authors performed a bioinformatic analysis of germline exome sequencing data in a cohort of 445 patients suffering from solid cancer, previously analyzed through the EXOMA trial.

Gene selection

This study focused on four drugs prescribed in the cohort, and the gene list was narrowed down to two genes (*DPYD* and *CYP2D6*) involved in these four drugs' metabolism. Among the eight drugs initially evaluated, azathioprine, mercaptopurine, rasburicase and desflurane were excluded because they had not been prescribed for this cohort (Figure 1).

In the cohort, 244 patients carried at least one actionable germline pre-emptive pharmacogenetic variant. For azathioprine and mercaptopurine, 39 patients carried actionable genotypes. One patient carried an actionable genotype for rasburicase, and one patient carried an actionable genotype for desflurane.

DPYD & 5-FU

In the cohort, 49% of patients ($n = 219$) had received 5-FU chemotherapy and 29 patients carried an actionable genotype. The authors determined 5-FU plasma concentrations for 88 patients, from one- to eight-times per patient.

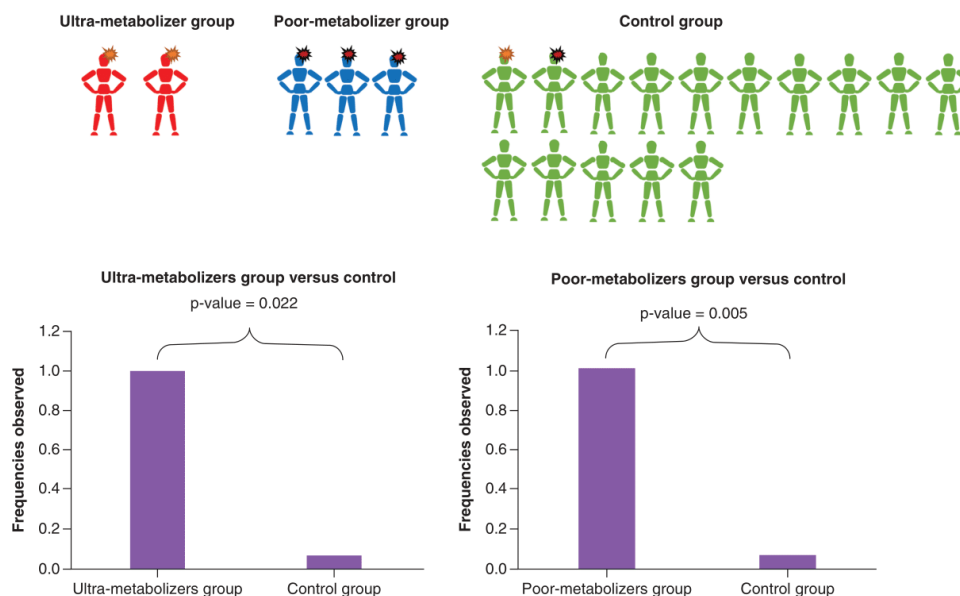


Figure 3. Overview of the proportion of patients presenting with opioid side effects or opioid resistance in the cohort. Red colors represent ultrarapid metabolizers, blue colors represent poor metabolizers and green colors represent normal metabolizers. Intolerant responders are represented with orange stars, and resistant responders are represented with red stars. P-value was calculated with t-test.

They extracted the mean, minimum, first-quartile, median, third-quartile and maximum values for clearance (Supplementary Table 2).

The authors detected three clinical variants mentioned in PharmGKB variant–drug combinations in a total of 58 patients, all at heterozygous state: c.1905+1G>A (*DPYD**2A; n = 2), c.2846A>T (D949V; n = 10) and c.1236G>A (E412E; HapB3; n = 46). Six patients had one clinical variant, and none of these patients had more than one variant. The variants found for these patients were c.1905+1G>A (n = 1), c.2846A>T (n = 1) and c.1236G>A (n = 4). Mean 5-FU clearance in those patients differed significantly from that in the patients with wild-type *DPYD* (p = 0.01; Supplementary Figure 1).

CYP2D6 genotypes

For all patients, the authors determined the *CYP2D6* genotype based on single nucleotide variant and copy number variant status (Supplementary Table 3). The authors classified patients according to metabolizer status; 6% (n = 26) had a predicted activity score of 0 (PM status), 30% (n = 135) had a predicted activity score between 0 and 1.25 (IM status), 43% (n = 192) had an predicted activity score between 1.25 and 2.25 (NM status), 2% (n = 10) had an predicted activity score above 2.25 (UM status) and 18% (n = 82) had indeterminate status (an unknown activity score). This allowed the authors to create a UM group (n = 10), a PM group (n = 26) and an NM group (n = 78).

CYP2D6 & opioids

Considering *CYP2D6* and opioids (codeine, tramadol and oxycodone), two UM patients, three PM patients and 15 NM patients had received one or more opioids. All UM patients were intolerant to opioids, and all PM patients were resistant to opioids. In the NM group, one patient was intolerant to the treatment and one was resistant (Figure 3).

All sentences are notified for the UM, PM and NM groups in supplemental data (Supplementary Table 4).

The differences in proportion were significant for UMs versus NMs (p = 0.02) and for PMs versus NMs (p < 0.01; Figure 3 & Table 1).

Table 1. Statistical results for all gene–drug combinations.

	Number of patients with side effects	Number of patients without side effects	Proportion of patients with side effects	Proportion of patients without side effects	p-value
CYP2D6/tamoxifen					
Poor metabolizer group (n = 24)	3	0	0.0125	0.06 (overall population)	0.1789
CYP2D6/ondansetron					
Ultrarapid metabolizer group (n = 5)	2	3	0.4	0.6	0.2511
Control group (n = 51)	9	42	0.1	0.9	
CYP2D6/codeine and tramadol					
Poor metabolizer group (n = 3)	3	0	1	0	0.02206
Ultrarapid metabolizer group (n = 2)	2	0	1	0	0.004902
Control group (n = 15)	1	14	0.07	0.93	

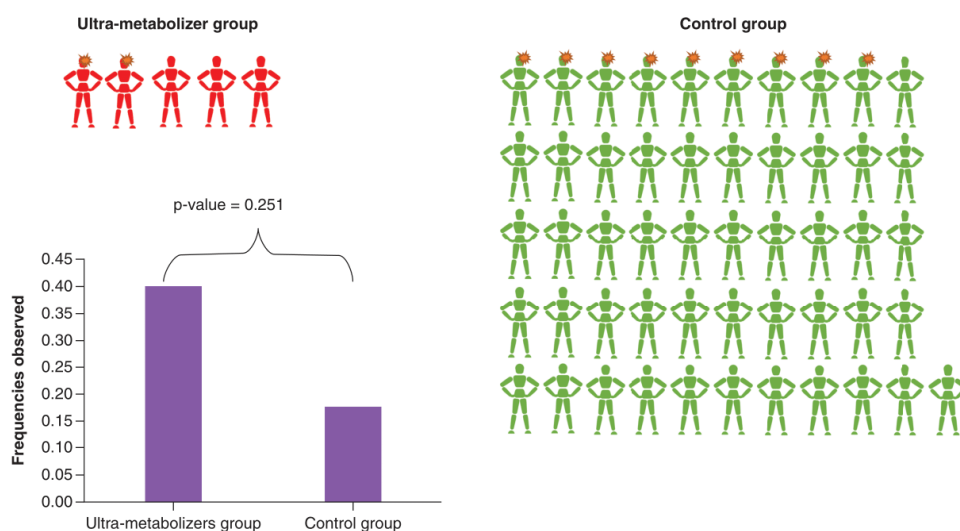


Figure 4. Overview of the proportion of patients presenting with vomiting treated by ondansetron in the cohort. Red colors represent ultrarapid metabolizers; green colors represent normal metabolizers. Patients vomiting during these chemotherapies are represented with orange stars. P-value was calculated with t-test.

CYP2D6 & 5-HT3 receptor antagonists

Analysis of *CYP2D6* and 5-HT3 receptor antagonists (ondansetron and granisetron) revealed that five UM patients had received ondansetron and two had had vomiting. In the NM group (activity score: 2), 51 patients had received ondansetron and nine had had vomiting (Figure 4).

All episodes of vomiting are notified and the grades (Common Terminology Criteria for Adverse Events v5.0) were extracted for the UM group and the NM group (Supplementary Table 5).

When comparing the proportions of patients with vomiting with ondansetron, the authors found that the frequency groups were 0.40 (n = 5) for the UM group and 0.18 for the NM group (activity score: 2; n = 51). However, this difference in proportion between the UM and NM groups was not significant (p = 0.25; Figure 4 & Table 1).

CYP2D6 & tamoxifen

Twenty-four patients had received tamoxifen before EXOMA inclusion. Among those, 12.5% (n = 3) were PMs, 29% (n = 7) were IMs, 58% (n = 14) were NMs, 0% were UMs and 0% had indeterminate status (Supplementary Table 6).

The authors compared the PM patients who had received tamoxifen with the overall Caucasian population (6%) [24]. The observed odds ratio was positive (2) for the comparison between the proportion observed (12.5%) and the proportion expected (6%). However, the difference in proportion between PMs and NMs was not significant ($p = 0.18$; Table 1).

Discussion

Genomic germline sequencing analysis can provide a wealth of relevant pharmacogenetics informations for clinical practice, thereby opening the door to preventive and personalized medicine [36]. This study describes three situations in which variant–drug combinations could have a significant clinical impact in oncology. In a cohort of solid tumor patients, the authors identified variants associated with level 1A clinical recommendations regarding the chemotherapy 5-FU and drugs often used as adjunct therapy in oncology (opioids and 5-HT₃ receptor antagonists).

The *DPYD* genotype and predicted activity have powerful evidence in the literature [37]. Logically, patients carrying one *DPYD* level 1A variant have a decreased 5-FU clearance value. In this study's cohort, 29 patients carried at least one variant for *DPYD* and the authors estimated the 5-FU mean clearance for six of them. Authors show that mean clearance was significantly lower than patients with no variant. The authors predicted the metabolizer status for *CYP2D6* for 445 patients and established three groups (UM, PM, NM). They observed a higher proportion of patients with intolerance in the UM group compared with the NM group and a higher proportion of patients with resistance in the PM group compared with the NM group. Analysis of proportion between UMs and NMs did not reveal a statistical difference with the risk of vomiting. Also, analysis of proportion between PMs and NMs did not reveal a statistical difference with the risk of relapse.

However, some alleles (*DPYD*3* and *DPYD*13*) were absent in the study's cohort [38]. This situation could be explained by the frequencies of these alleles in the Caucasian population. A limitation of screening only for level 1A PharmGKB variants is that only ~13–45% of potentially DPD-deficient patients are identified, given that 3–10% of the population is DPD deficient. On the other hand, different mechanisms could explain DPD deficient; methylation of the *DPYD* promoter was detected in DPD-deficient patients [39] and variations carried by the genes (*TYMS*, *CDA*, *SLC22A7*) could have increased toxicity with 5-FU therapy [40].

Opioids metabolized by *CYP2D6* are known to result in different effects depending on metabolizer status [41]. The authors of the present study observed that all of the patients in the UM and PM groups presented with adverse drug reactions related to opioids, compared with only 14% of the patients in the NM group. The relation between the tramadol metabolite and the *CYP2D6* genotype has been well characterized [42]. In a previous study, patients with PM status treated with tramadol and codeine presented with higher pain intensity than NM patients in similar conditions [43]. These results corroborate the high proportion of resistant patients in the PM group in the present study. At the other end of the spectrum, several case reports have been published showing a correlation between opioid side effects and *CYP2D6* UM status [44,45]. A similar retrospective study was conducted in the Italian population and showed an increased risk of side effects in PM and UM patients treated with codeine and oxycodone [46].

Regarding 5-HT₃ receptor antagonists and *CYP2D6*, the authors could not see a significant difference in the proportion of adverse drug reactions between UM patients and NM patients. However, the literature strongly correlates the *CYP2D6* genotype with the predicted occurrence of vomiting [47]. In the present study's cohort, this association was studied for ondansetron, the only 5-HT₃ receptor antagonist metabolized by *CYP2D6*. The proportions observed in the UM group (0.40) and NM group (0.16) were close to those found in another study (0.45 and 0.15, respectively) [48]. Considering this result, the authors cannot conclude a difference between the two groups, but the tendency observed and the literature suggest that *CYP2D6* genotyping might be of clinical interest when 5-HT₃ receptor antagonist inefficiency is observed.

Regarding tamoxifen, constitutional genetic is not the only cause of tamoxifen resistance [49]. The *CYP2D6* genotype could provide supplementary information in the clinical decision, but this study could not identify or exclude an impact of the *CYP2D6* genotype on breast cancer recurrence, and this was far beyond this study's objectives. Although a link between the concentration of the active metabolite (endoxifen) and *CYP2D6* is well documented [50], several studies could not find a correlation between the plasma level of endoxifen and tamoxifen

efficacy in breast cancer [51,52]. The CPIC recommendation indicates that *CYP2D6* PMs have approximately a two- to threefold higher risk of breast cancer recurrence [53]. The authors of the present study found this ratio when they compared the frequency of PMs in the overall population and the observed proportion of PMs who had received tamoxifen before inclusion in the EXOMA study. However, regarding discordant literature and the nonsignificant result in this study, the authors cannot conclude on the interest of *CYP2D6* genotyping with tamoxifen therapy.

Several bioinformatic limitations of this study are worth mentioning. Exome sequencing detects only the variants contained in the capture kit, and copy number variants in noncoding regions cannot be detected. These limitations make it difficult to determine common variants in the *UGT1A1* gene promoter, which is essential regarding another anticancer drug – irinotecan. Genome sequencing should partially resolve this limitation [54]. Also, the authors were unable to consider drug–drug interactions, mainly due to the multitude of drug combinations containing fluoropyrimidines and disease settings; a much larger patient population should have been enrolled. The *CYP2D6* genotype is particularly difficult to assess from exome data. Although the authors used Stargazer software to identify single nucleotide polymorphisms and XHMM software for duplications and deletions, no validation of this method was applied and the high number of *122 should be considered with caution. Nevertheless, this limitation did not impact the study, since the authors selected only known variants (*CYP2D6**1, *CYP2D6**2, *CYP2D6**3, *CYP2D6**4 and *CYP2D6**5) for the metabolizer groups. The study limitations, inherent in retrospective chart reviews, include the inability to collect missing data on potentially important confounders and to avoid missing data. Moreover, a small cohort size leads to limited power to detect a moderately increased risk for some outcomes of interest. Also, the authors had access only to medication in relation to cancer and the genotype-predicted phenotype of drug-metabolizing enzymes could be modified by phenoconversion.

Conclusion

Germline sequencing can provide relevant information about common pharmacogenetic variants, and this study exemplifies this potential in oncology with the case of *CYP2D6* and *DPYD* genotypes.

Summary points

- The authors of this study extracted a list of 66 PharmGKB level 1 variants in a cohort of 445 patients suffering from solid cancer.
- Based on the patients' clinical and treatment history, the authors retained two genes with variations of potential interest, *DPYD* and *CYP2D6*.
- Six patients treated with 5-fluorouracil and carrying one level 1A PharmGKB variant in *DPYD* showed a decreased drug mean clearance compared with noncarriers.
- Five patients with *CYP2D6* poor or ultrarapid metabolizer status experienced adverse drug reactions or resistance related to opioid therapy.
- Analysis of proportion between patients carrying one level 1A PharmGKB allele for *CYP2D6* and noncarriers for tamoxifen and ondansetron did not reveal a statistical difference in the risk of adverse drug reactions.
- This study describes three situations in which variant–drug combinations could have a significant clinical impact in oncology.
- Regarding tamoxifen and 5-HT3 antagonists, the proportions observed were close to those found in the literature.
- Germline sequencing can provide relevant information about common pharmacogenetic variants, and this study exemplifies this potential in oncology.

Supplementary data

To view the supplementary data that accompany this paper please visit the journal website at: www.futuremedicine.com/doi/suppl/10.2217/pgs-2022-0085

Author contributions

S Verdez designed the study. S Verdez performed the clinical analysis. S Verdez interpreted the exome data. J Albuissou, R Boidot and F Ghiringhelli performed the molecular laboratory work. S Verdez and Y Duffourd performed the bioinformatic analysis. All the authors contributed to the writing and reviewing of the paper.

Research Article Verdez, Albuissou, Duffourd *et al.*

Acknowledgments

The authors thank the University of Burgundy Centre de Calcul (CCuB) for providing technical support and management of the informatics platform. This work was supported by grants from Dijon University Hospital, the ISITE-BFC (PIA ANR) and the European Union through the FEDER programs. However, the funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish or preparation of the manuscript.

Financial & competing interests disclosure

The authors have no relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript. This includes employment, consultancies, honoraria, stock ownership or options, expert testimony, grants or patents received or pending or royalties.

No writing assistance was utilized in the production of this manuscript.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Pirmohamed M, Park BK. Genetic susceptibility to adverse drug reactions. *Trends Pharmacol. Sci.* 22(6), 298–305 (2001).
2. Relling MV, Klein TE, Gammal RS, Whirl-Carrillo M, Hoffman JM, Caudle KE. The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium: 10 years later. *Clin. Pharmacol. Ther.* 107(1), 171–175 (2020).
3. Matic M, Nijenhuis M, Soree B *et al.* Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene–drug interaction between *CYP2D6* and opioids (codeine, tramadol and oxycodone). *Eur. J. Hum. Genet.* doi: s41431-021-00920-y (2021) (Epub ahead of print).
4. Picard N, Boyer J-C, Etienne-Grimaldi M-C, Barin-Le Guellec C, Thomas F, Loriot M-A. Pharmacogenetics-based personalized therapy: levels of evidence and recommendations from the French Network of Pharmacogenetics (RNPgX). *Therapies* 72(2), 185–192 (2017).
5. Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM *et al.* Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin. Pharmacol. Ther.* 92(4), 414–417 (2012).
6. Ansfield FJ. Five years clinical experience with 5-fluorouracil. *JAMA* 181(4), 295 (1962).
7. Meta-Analysis Group in Cancer, Lévy E, Piedbois P *et al.* Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: effect of administration schedule and prognostic factors. *J. Clin. Oncol.* 16(11), 3537–3541 (1998).
8. 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.* 103(2), 210–216 (2018).
9. Van Kuilenburg ABP, Van Lenthe H, Tromp A, Veltman PCJ, Van Gennip AH. Pitfalls in the diagnosis of patients with a partial dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Clin. Chem.* 46(1), 9–17 (2000).
10. Etienne MC, Lagrange JL, Dassonville O *et al.* Population study of dihydropyrimidine dehydrogenase in cancer patients. *JCO* 12(11), 2248–2253 (1994).
11. Loriot M-A, Ciccolini J, Thomas F *et al.* Dépistage du déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) et sécurisation des chimiothérapies à base de fluoropyrimidines: mise au point et recommandations nationales du GPCO-Unicancer et du RNPgX. *Bull. Cancer* 105(4), 397–407 (2018).
12. Thomas F, Hennebelle I, Delmas C *et al.* Genotyping of a family with a novel deleterious *DPYD* mutation supports the pretherapeutic screening of DPD deficiency with dihydrouracil/uracil ratio. *Clin. Pharmacol. Ther.* 99(2), 235–242 (2016).
13. Ciccolini J, Mercier C, Evrard A *et al.* A rapid and inexpensive method for anticipating severe toxicity to fluorouracil and fluorouracil-based chemotherapy. *Ther. Drug Monit.* 28(5), 678–685 (2006).
14. Meulendijks D, Henricks LM, Jacobs BAW *et al.* Pretreatment serum uracil concentration as a predictor of severe and fatal fluoropyrimidine-associated toxicity. *Br. J. Cancer* 116(11), 1415–1424 (2017).
15. van Staveren MC, van Kuilenburg ABP, Guchelaar H-J *et al.* Evaluation of an oral uracil loading test to identify DPD-deficient patients using a limited sampling strategy: uracil loading dose to detect DPD deficiency. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 81(3), 553–561 (2016).
16. Bocci G, Barbara C, Vannozzi F *et al.* A pharmacokinetic-based test to prevent severe 5-fluorouracil toxicity. *Clin. Pharmacol. Ther.* 80(4), 384–395 (2006).
17. Henricks LM, Lunenburg CATC, de Man FM *et al.* *DPYD* genotype-guided dose individualisation of fluoropyrimidine therapy in patients with cancer: a prospective safety analysis. *Lancet Oncol.* 19(11), 1459–1467 (2018).
18. Gaedigk A. Complexities of *CYP2D6* gene analysis and interpretation. *Int. Rev. Psychiatry* 25(5), 534–553 (2013).
19. Nofziger C, Turner AJ, Sangkuhl K *et al.* PharmVar GeneFocus: *CYP2D6*. *Clin. Pharmacol. Ther.* 107(1), 154–170 (2020).
20. Taylor C, Crosby I, Yip V, Maguire P, Pirmohamed M, Turner RM. A review of the important role of *CYP2D6* in pharmacogenomics. *Genes* 11(11), 1295 (2020).

21. Gasche Y, Daali Y, Fathi M *et al.* Codeine intoxication associated with ultrarapid *CYP2D6* metabolism. *N. Engl. J. Med.* 351(27), 2827–2831 (2004).
22. Zwisler ST, Enggaard TP, Noehr-Jensen L *et al.* The hypoalgesic effect of oxycodone in human experimental pain models in relation to the *CYP2D6* oxidation polymorphism. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 104(4), 335–344 (2009).
23. Crews KR, Gaedigk A, Dunnenberger HM *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450 2D6 genotype and codeine therapy: 2014 update. *Clin. Pharmacol. Ther.* 95(4), 376–382 (2014).
24. Stamer UM, Lee E-H, Rauters NI *et al.* *CYP2D6*- and *CYP3A*-dependent enantioselective plasma concentrations of ondansetron in postanesthesia care: anesthesia & analgesia. 113(1), 48–54 (2011).
25. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 365(9472), 1687–1717 (2005).
26. Buck MB, Collier JK, Mürdter TE, Eichelbaum M, Knabbe C. TGF β 2 and T β RII are valid molecular biomarkers for the antiproliferative effects of tamoxifen and tamoxifen metabolites in breast cancer cells. *Breast Cancer Res. Treat.* 107(1), 15–24 (2007).
27. Schroth W, Winter S, Mürdter T *et al.* Improved prediction of endoxifen metabolism by *CYP2D6* genotype in breast cancer patients treated with tamoxifen. *Front. Pharmacol.* 8, 582 (2017).
28. Hertz DL, McLeod HL, Irvin WJ. Tamoxifen and *CYP2D6*: a contradiction of data. *Oncologist* 17(5), 620–630 (2012).
29. Réda M, Richard C, Bertaut A *et al.* Implementation and use of whole exome sequencing for metastatic solid cancer. *EBioMedicine* 51, 102624 (2020).
30. Bruel A-L, Nambot S, Quéré V *et al.* Increased diagnostic and new genes identification outcome using research reanalysis of singleton exome sequencing. *Eur. J. Hum. Genet.* 27(10), 1519–1531 (2019).
31. Thevenon J, Duffourd Y, Masurel-Paulet A *et al.* Diagnostic odyssey in severe neurodevelopmental disorders: toward clinical whole-exome sequencing as a first-line diagnostic test. *Clin. Genet.* 89(6), 700–707 (2016).
32. Cingolani P, Patel VM, Coon M *et al.* Using *Drosophila melanogaster* as a model for genotoxic chemical mutational studies with a new program, SnpSift. *Front. Gene* 3, 35 (2012).
33. Lee S, Wheeler MM, Patterson K *et al.* Stargazer: a software tool for calling star alleles from next-generation sequencing data using *CYP2D6* as a model. *Genet. Med.* 21(2), 361–372 (2019).
34. Sherry ST. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res.* 29(1), 308–311 (2001).
35. Macaire P, Morawska K, Vincent J *et al.* Therapeutic drug monitoring as a tool to optimize 5-FU-based chemotherapy in gastrointestinal cancer patients older than 75 years. *Eur. J. Cancer* 111, 116–125 (2019).
36. Caspar SM, Schneider T, Stoll P, Meienberg J, Matyas G. Potential of whole-genome sequencing-based pharmacogenetic profiling. *Pharmacogenomics* 22(3), 177–190 (2021).
37. Henricks LM, Lunenburg CATC, de Man FM *et al.* *DPYD* genotype-guided dose individualisation of fluoropyrimidine therapy in patients with cancer: a prospective safety analysis. *Lancet Oncol.* 19(11), 1459–1467 (2018).
38. Vreken P, Kuilenburg ABPV, Meisma R, van Gennip AH. Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency: identification and expression of missense mutations *C29R*, *R886H* and *R235W*. *Hum. Genet.* 101(3), 333–338 (1997).
39. Ezzeldin HH, Lee AM, Mattison LK, Diasio RB. Methylation of the *DPYD* promoter: an alternative mechanism for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency in cancer patients. *Clin. Cancer Res.* 11(24), 8699–8705 (2005).
40. Pellicer M, García-González X, García MI *et al.* Identification of new SNPs associated with severe toxicity to capecitabine. *Pharmacol. Res.* 120, 133–137 (2017).
41. Stamer UM, Musshoff F, Kobilya M, Madea B, Hoeft A, Stuber F. Concentrations of tramadol and O-desmethyltramadol enantiomers in different *CYP2D6* genotypes. *Clin. Pharmacol. Ther.* 82(1), 41–47 (2007).
42. Smith DM, Weitzel KW, Elsej AR *et al.* *CYP2D6*-guided opioid therapy improves pain control in *CYP2D6* intermediate and poor metabolizers: a pragmatic clinical trial. *Genet. Med.* 21(8), 1842–1850 (2019).
43. de Leon J, Dinsmore L, Wedlund P. Adverse drug reactions to oxycodone and hydrocodone in *CYP2D6* ultrarapid metabolizers. *J. Clin. Psychopharmacol.* 23(4), 420–421 (2003).
44. Gasche Y, Daali Y, Fathi M *et al.* Codeine intoxication associated with ultrarapid *CYP2D6* metabolism. *N. Engl. J. Med.* 351(27), 2827–2831 (2004).
45. Dalén P, Frengell C, Dahl M-L, Sjöqvist F. Quick onset of severe abdominal pain after codeine in an ultrarapid metabolizer of debrisoquine. *Ther. Drug Monit.* 19(5), 543–544 (1997).
46. Dagostino C, Allegri M, Napolioni V *et al.* *CYP2D6* genotype can help to predict effectiveness and safety during opioid treatment for chronic low back pain: results from a retrospective study in an Italian cohort. *PGPM* 11, 179–191 (2018).
47. Bell G, Caudle K, Whirl-Carrillo M *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for *CYP2D6* genotype and use of ondansetron and tropisetron. *Clin. Pharmacol. Ther.* 102(2), 213–218 (2017).

Research Article Verdez, Albuissou, Duffourd *et al.*

48. Candiotti KA, Birnbach DJ, Lubarsky DA *et al.* The impact of pharmacogenomics on postoperative nausea and vomiting. *Anesthesiology* 102(3), 543–549 (2005).
49. Wu X, Hawse JR, Subramaniam M, Goetz MP, Ingle JN, Spelsberg TC. The tamoxifen metabolite, endoxifen, is a potent antiestrogen that targets estrogen receptor α for degradation in breast cancer cells. *Cancer Res.* 69(5), 1722–1727 (2009).
50. Chang M-S. Tamoxifen resistance in breast cancer. *Biomol. Ther. (Seoul)* 20(3), 256–267 (2012).
51. Neven P, Jongen L, Lintermans A *et al.* Tamoxifen metabolism and efficacy in breast cancer: a prospective multicenter trial. *Clin. Cancer Res.* 24(10), 2312–2318 (2018).
52. Sanchez-Spitman A, Dezentjé V, Swen J *et al.* Tamoxifen pharmacogenetics and metabolism: results from the prospective CYPTAM study. *JCO* 37(8), 636–646 (2019).
53. Goetz MP, Sangkuhl K, Guchelaar H-J *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for *CYP2D6* and tamoxifen therapy. *Clin. Pharmacol. Ther.* 103(5), 770–777 (2018).
54. Xue Y, Ankala A, Wilcox WR, Hegde MR. Solving the molecular diagnostic testing conundrum for Mendelian disorders in the era of next-generation sequencing: single-gene, gene panel, or exome/genome sequencing. *Genet. Med.* 17(6), 444–451 (2015).

FIGURES SUPPLÉMENTAIRE

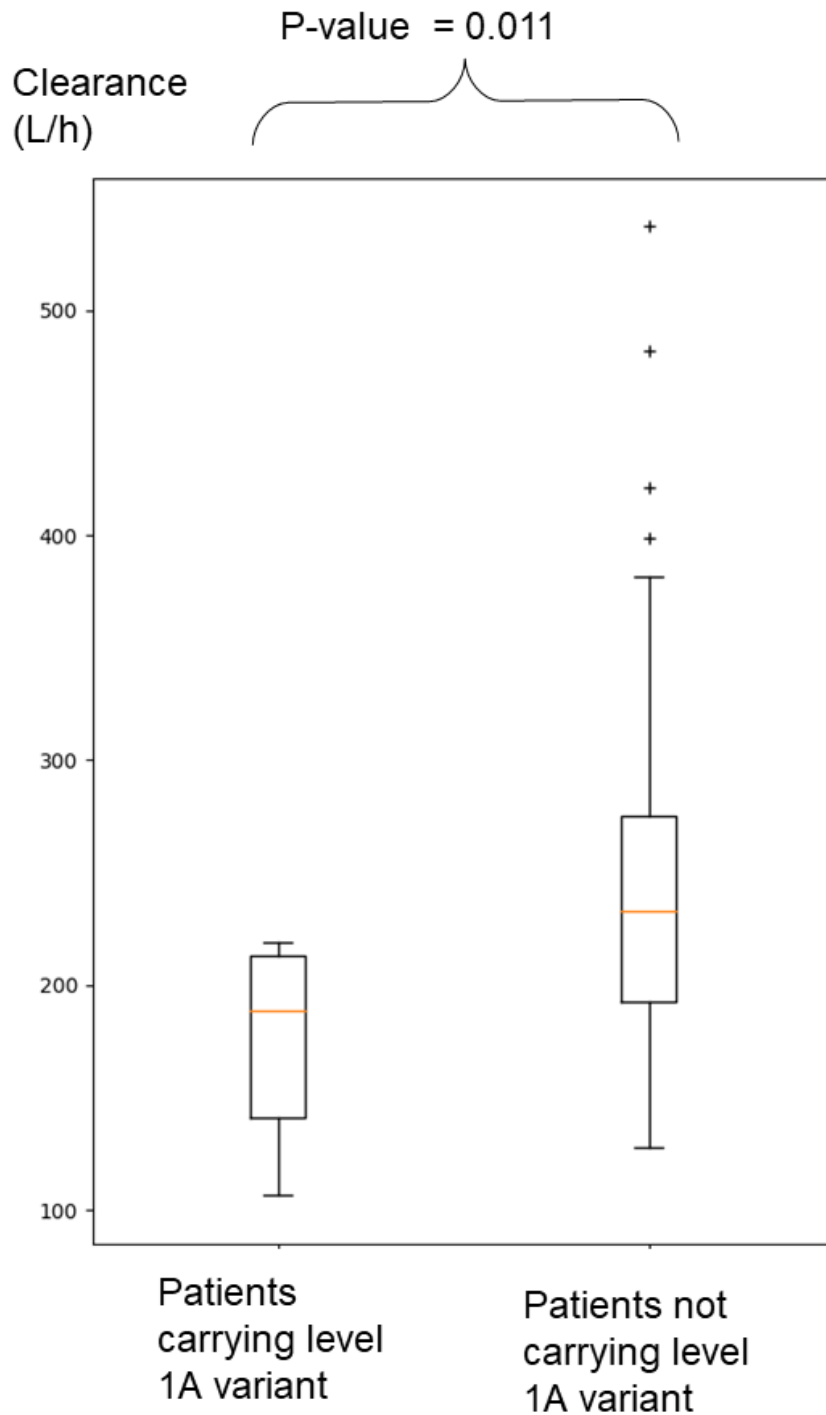


Figure S1: Distribution of clearance for patient carrying one *DPYD* level 1A PharmGKB variant compared with patient with no *DPYD* level 1A PharmGKB variant.

Article 2

TABLES SUPPLEMENTAIRES

Drug	Gene	variants	Number of patient with this variant	Frequency of patient with this variant in our cohort
Azathioprine / mercaptopurine	NUDT15	rs116855232	2	0,45 %
Azathioprine / mercaptopurine	NUDT15	rs746071566	0	0,00 %
Azathioprine / mercaptopurine	TMPT	rs1142345	34	7,64 %
Azathioprine / mercaptopurine	TMPT	rs1800460	32	7,19 %
Azathioprine / mercaptopurine	TMPT	rs1800462	5	1,12 %
Azathioprine / mercaptopurine	TMPT	rs1800584	0	0,00 %
Desflurane	CACNA1 S	rs1800559	0	0,00 %
Desflurane	CACNA1 S	rs772226819	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs144336148	1	0,22 %
Desflurane	RYR1	rs111888148	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs112563513	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192116	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192122	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192124	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192161	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192162	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192163	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192167	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192168	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192170	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192172	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192175	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192176	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192177	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs118192178	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs121918592	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs121918593	0	0,00 %

Article 2

Desflurane	RYR1	rs121918594	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs121918595	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs121918596	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs1801086	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922747	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922748	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922753	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922762	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922764	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922768	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922770	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922772	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922802	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922803	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922807	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922809	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922816	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922818	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922832	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922843	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922876	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs193922878	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs28933396	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs28933397	0	0,00 %
Desflurane	RYR1	rs63749869	0	0,00 %
Erlotinib	EGFR	rs121434568	0	0,00 %
5 FU / capecitabine	DPYD	rs67376798	5	1,12 %
5 FU / capecitabine	DPYD	rs3918290	2	0,45 %
5 FU / capecitabine	DPYD	rs55886062	0	0,00 %
rasburicase	G6PD	rs1050829	1	0,22 %
rasburicase	G6PD	rs1050828	0	0,00 %
rasburicase	G6PD	rs5030868	0	0,00 %

Article 2

Tamoxifen / codeine / Tramadol / ondansetron / tropisetron	CYP2D6	rs3892097	134	30,11 %
Tamoxifen / codeine / Tramadol / ondansetron / tropisetron	CYP2D6	DUP	15	3,37 %
Tamoxifen / codeine / Tramadol / ondansetron / tropisetron	CYP2D6	DEL	5	1,12 %
Tamoxifen / codeine / Tramadol / ondansetron / tropisetron	CYP2D6	rs1065852	0	0,00 %
Tamoxifen / codeine / Tramadol / ondansetron / tropisetron	CYP2D6	rs28371725	0	0,00 %
Tamoxifen / codeine / Tramadol / ondansetron / tropisetron	CYP2D6	rs35742686	0	0,00 %
Tamoxifen / codeine / Tramadol / ondansetron / tropisetron	CYP2D6	rs5030655	0	0,00 %

Table S1: List of PharmGKB level 1 variant and frequency in our cohort

patient	Number of clearance	Mean of individual clearance	minimum	Q1	median	Q3	maximum
dijex3666	4	166.701023177	107.792886747	107.792886747	175.011485129	208.988235704	208.988235704
dijex3787	2	274.071106325	245.553185285	245.553185285	274.071106325	302.589027365	302.589027365
dijex3783	4	268.202005555	237.254469212	237.254469212	268.721557279	298.110438452	298.110438452
dijex3942	5	229.706376645	140.504254157	143.071109744	159.846547315	351.271558211	479.195885928
dijex3775	4	221.821692798	189.15340341	189.15340341	208.410915441	281.311536899	281.311536899
dijex3777	2	127.826864248	123.355263158	123.355263158	127.826864248	132.298465338	132.298465338
dijex4049	4	267.653047481	240.326844509	240.326844509	262.095113179	306.095119058	306.095119058

Article 2

dijex4046	3	239.280264232	197.180321404	197.180321404	248.921340856	271.739130435	271.739130435
dijex4045	6	215.599483005	154.703967512	179.895051845	225.395316559	241.50808061	243.389755504
dijex3838	2	141.97384414	110.406170305	110.406170305	141.97384414	173.541517975	173.541517975
dijex3797	1	106.643059945	106.643059945	106.643059945	106.643059945	106.643059945	106.643059945
dijex3799	3	313.362629095	232.919254658	232.919254658	262.378240098	444.790392528	444.790392528
dijex3885	2	134.894362383	125.236648472	125.236648472	134.894362383	144.552076293	144.552076293
dijex3951	3	191.888583925	170.502983802	170.502983802	185.452297548	219.710470425	219.710470425
dijex3888	7	162.823995552	109.679959503	120.566849681	161.41102584	185.977310768	237.349040906
dijex3889	7	381.536166998	293.162547357	308.954050107	345.522602937	484.003281378	496.446488294
dijex3705	7	217.861741225	155.575838035	164.137729793	223.5003129	260.845851958	290.124956144
dijex3800	4	301.340128829	254.525994283	254.525994283	288.948664937	372.937191161	372.937191161
dijex3706	1	235.282584187	235.282584187	235.282584187	235.282584187	235.282584187	235.282584187
dijex4050	2	258.9461825	229.638701776	229.638701776	258.9461825	288.253663224	288.253663224
dijex3953	1	142.396050883	142.396050883	142.396050883	142.396050883	142.396050883	142.396050883
dijex4054	3	165.028272118	146.290564787	146.290564787	155.815874446	192.978377122	192.978377122
dijex3928	1	282.862954488	282.862954488	282.862954488	282.862954488	282.862954488	282.862954488
dijex3924	3	481.861238611	424.408186362	424.408186362	465.838509317	555.337020154	555.337020154
dijex3927	1	223.558433549	223.558433549	223.558433549	223.558433549	223.558433549	223.558433549

Article 2

dijex3926	2	333.427036482	304.535232384	304.535232384	333.427036482	362.31884058	362.31884058
dijex3920	2	253.123667945	251.491901108	251.491901108	253.123667945	254.755434783	254.755434783
dijex3719	2	334.031932112	295.876417092	295.876417092	334.031932112	372.187447132	372.187447132
dijex3716	1	244.963995989	244.963995989	244.963995989	244.963995989	244.963995989	244.963995989
dijex3717	4	249.515667452	191.869601764	191.869601764	251.300865921	303.5913362	303.5913362
dijex4025	5	202.143237453	153.570003989	169.573973362	189.44775978	241.060240379	261.287625418
dijex4024	3	163.179422039	132.988155188	132.988155188	150.687133328	205.862977602	205.862977602
dijex4021	8	179.74824992	130.27194268	140.591228462	178.406130275	216.805343959	248.897290485
dijex4022	5	225.818219739	170.076126074	171.72187167	241.922217169	271.862569094	292.454669526
dijex3649	4	176.399674864	148.834440289	148.834440289	177.367777127	202.028704912	202.028704912
dijex3721	3	213.927378138	122.14021171	122.14021171	212.912087912	306.729834791	306.729834791
dijex3720	7	151.967528322	86.6282462795	137.75038782	156.492032168	176.920695298	192.754827906
dijex3824	1	194.508009153	194.508009153	194.508009153	194.508009153	194.508009153	194.508009153
dijex3826	4	218.946878855	171.230433356	171.230433356	212.77609974	279.004882585	279.004882585
dijex3729	2	275.313943264	268.301517245	268.301517245	275.313943264	282.326369283	282.326369283
dijex3647	3	255.690045186	243.787618952	243.787618952	255.754475703	267.528040902	267.528040902
dijex3907	2	231.075111989	200.383171723	200.383171723	231.075111989	261.767052254	261.767052254
dijex3906	6	295.589325027	180.148383444	203.952467465	301.731263614	381.084244003	443.560436277

Article 2

dijex3908	5	259.73265016	197.40690193	205.930242975	247.189489367	319.806637741	357.422640031
dijex3854	2	229.235958393	218.330359658	218.330359658	229.235958393	240.141557128	240.141557128
dijex3730	4	128.465654911	102.448775612	102.448775612	132.780126628	145.853590776	145.853590776
dijex3850	5	213.401683534	170.899006455	181.87306564	219.034059796	242.114113298	262.022464059
dijex3853	1	421.33767611	421.33767611	421.33767611	421.33767611	421.33767611	421.33767611
dijex3983	4	177.45995614	136.16374615	136.16374615	176.816830298	220.042417815	220.042417815
dijex3982	3	252.954892475	209.454096481	209.454096481	258.124630126	291.285950819	291.285950819
dijex3738	1	208.578848019	208.578848019	208.578848019	208.578848019	208.578848019	208.578848019
dijex3985	1	250.836120401	250.836120401	250.836120401	250.836120401	250.836120401	250.836120401
dijex3693	1	169.453734671	169.453734671	169.453734671	169.453734671	169.453734671	169.453734671
dijex3697	5	366.795934559	189.953566906	237.997378419	323.927440253	517.028737853	678.326250409
dijex3910	6	231.045990716	176.563920977	186.649066528	225.625590663	280.863314957	324.464633355
dijex3919	3	236.510527422	141.989815903	141.989815903	198.187608491	369.354157873	369.354157873
dijex3840	4	227.660541965	141.834750696	141.834750696	234.478671101	299.850074963	299.850074963
dijex3841	1	537.340619308	537.340619308	537.340619308	537.340619308	537.340619308	537.340619308
dijex3848	4	340.575792874	308.083336543	308.083336543	333.8732025	386.473429952	386.473429952
dijex3849	3	158.999196665	135.243438189	135.243438189	166.269604924	175.484546883	175.484546883
dijex3767	6	170.815337151	91.3408841798	128.730327242	179.428597803	204.287086408	214.217708664

Article 2

dijex3688	8	312.33064042	229.33588151	245.524296675	288.332873134	372.670807453	481.56301596
dijex3687	6	243.827022429	198.235923022	206.605884216	235.08231823	289.79286484	303.708439898
dijex5387	6	252.117807897	174.547762615	197.345427813	268.820709611	290.187286266	292.377545405
dijex5386	4	212.407640253	153.977065521	153.977065521	219.013496649	257.62650219	257.62650219
dijex5389	3	250.939641202	220.926122305	220.926122305	224.526249613	307.366551689	307.366551689
dijex5388	2	151.426211036	125.167724751	125.167724751	151.426211036	177.68469732	177.68469732
dijex3963	5	359.259246801	222.52653201	258.647201156	378.071833648	450.464999022	459.526334394
dijex3962	3	202.759292157	166.10327544	166.10327544	218.927638654	223.246962377	223.246962377
dijex3967	5	263.79657203	213.327915482	233.475551944	263.124921689	294.453417287	304.469613933
dijex4002	4	198.58446709	174.279948633	174.279948633	198.39558736	223.266745006	223.266745006
dijex4006	2	375.481865749	283.24599915	283.24599915	375.481865749	467.717732349	467.717732349
dijex4004	2	255.458975147	238.367658276	238.367658276	255.458975147	272.550292018	272.550292018
dijex3670	7	210.406490286	130.465123335	165.41025262	213.087767091	248.810915277	294.049263509
dijex5398	1	180.54886856	180.54886856	180.54886856	180.54886856	180.54886856	180.54886856
dijex5390	3	312.305169769	278.038438814	278.038438814	321.83628856	337.040781935	337.040781935
dijex5393	2	184.527200047	172.929636389	172.929636389	184.527200047	196.124763705	196.124763705
dijex5394	2	139.011116142	129.899900665	129.899900665	139.011116142	148.12233162	148.12233162
dijex5395	5	349.091772928	289.855072464	300.207039337	340.560790101	402.241997931	406.022669599

Article 2

dijex5396	1	398.883127244	398.883127244	398.883127244	398.883127244	398.883127244	398.883127244
dijex5397	4	188.761367312	151.981531358	151.981531358	178.156156851	246.751624188	246.751624188
dijex3864	2	245.524626257	203.362255965	203.362255965	245.524626257	287.686996548	287.686996548
dijex3866	5	308.357875303	195.644649119	233.798120868	298.890848613	387.651143084	406.451716755
dijex3861	4	140.440451918	124.012253281	124.012253281	136.791415062	164.166724269	164.166724269
dijex4015	6	350.87492807	293.19221968	295.392348271	333.357008545	423.875427395	425.818018826
dijex4016	4	227.572463768	153.043478261	153.043478261	226.449275362	304.347826087	304.347826087
dijex4010	2	199.45103629	183.236096045	183.236096045	199.45103629	215.665976536	215.665976536
dijex4012	3	201.700526922	168.366841636	168.366841636	207.191125845	229.543613287	229.543613287

Table S2: Clearance of 5-FU for 88 patients

name	haplotype 1	haplotype 2	score haplotype 1	score haplotype 2	score activity	phenotype	CNV with xHMM	haplotype 1 revised	haplotype 2 revised	genotype	score activity revised	phenotype revised
dijex3639	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3640	*3	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*3	*4	*3/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3641	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3642	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3643	*1	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*127	*1/*127	unknown	unknown
dijex3644	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3645	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown

Article 2

dijex3646	*41	*41	0.5	0.5	1.0	intermediate_metabolizer		*41	*41	*41/*41	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3647	*3	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*3	*4	*3/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3648	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3649	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3650	*2	*17	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*17	*2/*17	1.5	normal_metabolizer
dijex3651	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3652	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3653	*1	*20	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*20	*1/*20	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3654	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3655	*1	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*127	*1/*127	unknown	unknown
dijex3656	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3657	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3658	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3659	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3660	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3661	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3662	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3663	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3664	*41	*122	0.5	unknown	unknown	unknown		*41	*122	*41/*122	unknown	unknown
dijex3665	*34	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*34	*122	*34/*122	unknown	unknown

Article 2

dijex3666	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3667	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3668	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3669	*1	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*127	*1/*127	unknown	unknown
dijex3670	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3671	*10	*10	0.25	0.25	0.5	intermediate_metabolizer		*10	*10	*10/*10	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3672	*1	*15	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*15	*1/*15	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3673	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3674	*4	*10	0.0	0.25	0.25	intermediate_metabolizer		*4	*10	*4/*10	0.25	intermediate_metabolizer
dijex3675	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3676	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3677	*1	*22	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*22	*1/*22	unknown	unknown
dijex3678	*1	*3	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*3	*1/*3	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3679	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3680	*2	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*9	*2/*9	1.5	normal_metabolizer
dijex3681	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3682	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3683	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3684	*2	*6	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*6	*2/*6	1.0	intermediate_metabolizer

Article 2

dijex3685	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3686	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer	DUP	*1x2	*1	*1x2/*1	3.0	ultrapid_metabolizer
dijex3687	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3688	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3689	*2	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer	DUP	*2x2	*9	*2x2/*9	2.5	ultrapid_metabolizer
dijex3690	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3691	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3692	*10	*41	0.25	0.5	0.75	intermediate_metabolizer		*10	*41	*10/*41	0.75	intermediate_metabolizer
dijex3693	*2	*106	1.0	unknown	unknown	unknown		*2	*106	*2/*106	unknown	unknown
dijex3694	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer	DUP	*4	*5	*4/*5	0.0	poor_metabolizer
dijex3695	*4	*127	0.0	unknown	unknown	unknown		*4	*127	*4/*127	unknown	unknown
dijex3696	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3697	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3698	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3699	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3700	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3701	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3702	*4	*6	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*6	*4/*6	0.0	poor_metabolizer
dijex3703	*41	*41	0.5	0.5	1.0	intermediate_metabolizer		*41	*41	*41/*41	1.0	intermediate_metabolizer

Article 2

dijex3704	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3705	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3706	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3707	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3708	*6	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*6	*41	*6/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3709	*33	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*33	*35	*33/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3710	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3711	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3712	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3713	*35	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*35	*35	*35/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3714	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3715	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3716	*4	*116	0.0	unknown	unknown	unknown		*4	*116	*4/*116	unknown	unknown
dijex3717	*35	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*35	*122	*35/*122	unknown	unknown
dijex3718	*4	*127	0.0	unknown	unknown	unknown		*4	*127	*4/*127	unknown	unknown
dijex3719	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3720	*41	*41	0.5	0.5	1.0	intermediate_metabolizer		*41	*41	*41/*41	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3721	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3722	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer

Article 2

dijex3723	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3724	*4	*127	0.0	unknown	unknown	unknown		*4	*127	*4/*127	unknown	unknown
dijex3725	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3726	*4	*22	0.0	unknown	unknown	unknown		*4	*22	*4/*22	unknown	unknown
dijex3727	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3728	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3729	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3730	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3731	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3732	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3733	*4	*35	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*35	*4/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3734	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3735	*4	*10	0.0	0.25	0.25	intermediate_metabolizer		*4	*10	*4/*10	0.25	intermediate_metabolizer
dijex3736	*4	*122	0.0	unknown	unknown	unknown		*4	*122	*4/*122	unknown	unknown
dijex3737	*1	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*9	*1/*9	1.5	normal_metabolizer
dijex3738	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3739	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3740	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3741	*2	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*2	*127	*2/*127	unknown	unknown
dijex3742	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer

Article 2

												r
dijex3743	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3744	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3745	*4	*122	0.0	unknown	unknown	unknown		*4	*122	*4/*122	unknown	unknown
dijex3746	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3747	*10	*10	0.25	0.25	0.5	intermediate_metabolizer		*10	*10	*10/*10	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3748	*4	*17	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*17	*4/*17	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3749	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3750	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3751	*4	*127	0.0	unknown	unknown	unknown		*4	*127	*4/*127	unknown	unknown
dijex3752	*35	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*35	*41	*35/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3753	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer	DUP	*2x2	*2	*2x2/*2	3.0	ultrapid_metabolizer
dijex3754	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3755	*4	*35	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*35	*4/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3756	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3757	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3758	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3759	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3760	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer

Article 2

dijex3761	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3762	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3763	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3764	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3765	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3766	*41	*127	0.5	unknown	unknown	unknown		*41	*127	*41/*127	unknown	unknown
dijex3767	*35	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*35	*41	*35/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3768	*2	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*9	*2/*9	1.5	normal_metabolizer
dijex3769	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3770	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3771	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3772	*41	*122	0.5	unknown	unknown	unknown		*41	*122	*41/*122	unknown	unknown
dijex3773	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3774	*31	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*31	*41	*31/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3775	*2	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*2	*127	*2/*127	unknown	unknown
dijex3776	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3777	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3778	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3779	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3780	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer

Article 2

												r
dijex3781	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3782	*1	*22	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*22	*1/*22	unknown	unknown
dijex3783	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3784	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3785	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3786	*4	*35	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*35	*4/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3787	*1	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*9	*1/*9	1.5	normal_metabolizer
dijex3788	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3789	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3790	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3791	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3792	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3793	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3794	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3795	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3796	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3797	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3798	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3799	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3800	*1	*33	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*33	*1/*33	2.0	normal_metabolizer

Article 2

dijex3801	*2	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer	DUP	*2x3	*9	*2x3/*9	3.5	ultrapid_metabolizer
dijex3802	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3803	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3804	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3805	*41	*41	0.5	0.5	1.0	intermediate_metabolizer		*41	*41	*41/*41	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3806	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3807	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3808	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3809	*3	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*3	*4	*3/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3810	*1	*20	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*20	*1/*20	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3811	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3812	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3813	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3814	*41	*122	0.5	unknown	unknown	unknown		*41	*122	*41/*122	unknown	unknown
dijex3815	*9	*35	0.5	1.0	1.5	normal_metabolizer		*9	*35	*9/*35	1.5	normal_metabolizer
dijex3816	*35	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*35	*41	*35/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3817	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3818	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3819	*1	*22	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*22	*1/*22	unknown	unknown
dijex3820	*2	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*9	*2/*9	1.5	normal_metabolizer
dijex3821	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3822	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown

Article 2

dijex3823	*9	*41	0.5	0.5	1.0	intermediate_metabolizer		*9	*41	*9/*41	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3824	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3825	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3826	*35	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*35	*35	*35/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3827	*3	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*3	*4	*3/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3828	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3829	*1	*3	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*3	*1/*3	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3830	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3831	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3832	*35	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*35	*127	*35/*127	unknown	unknown
dijex3833	*1	*3	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*3	*1/*3	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3834	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3835	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3836	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3837	*41	*122	0.5	unknown	unknown	unknown		*41	*122	*41/*122	unknown	unknown
dijex3838	*41	*43	0.5	unknown	unknown	unknown		*41	*43	*41/*43	unknown	unknown
dijex3839	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3840	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3841	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer

Article 2

dijex3842	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3843	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3844	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3845	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3846	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3847	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3848	*35	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*35	*35	*35/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3849	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer	DEL	*4	*5	*4/*5	0.0	poor_metabolizer
dijex3850	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3851	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer	DEL	*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3852	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3853	*1	*7	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*7	*1/*7	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3854	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3855	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3856	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown	DEL	*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3857	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3858	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3859	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3860	*10	*10	0.25	0.25	0.5	intermediate_metabolizer	DUP	*10x2	*10	*10x2/*10	0.75	intermediate_metabolizer

Article 2

dijex3861	*1	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*127	*1/*127	unknown	unknown
dijex3862	*41	*41	0.5	0.5	1.0	intermediate_metabolizer		*41	*41	*41/*41	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3863	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer	DEL	*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3864	*4	*35	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*35	*4/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3865	*4	*10	0.0	0.25	0.25	intermediate_metabolizer	DEL	*4	*10	*4/*10	0.25	intermediate_metabolizer
dijex3866	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3867	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3868	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3869	*35	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer	DEL	*5	*35	*5/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3870	*4	*10	0.0	0.25	0.25	intermediate_metabolizer		*4	*10	*4/*10	0.25	intermediate_metabolizer
dijex3871	*4	*8	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*8	*4/*8	0.0	poor_metabolizer
dijex3872	*4	*10	0.0	0.25	0.25	intermediate_metabolizer		*4	*10	*4/*10	0.25	intermediate_metabolizer
dijex3873	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3874	*4	*35	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*35	*4/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3875	*41	*122	0.5	unknown	unknown	unknown		*41	*122	*41/*122	unknown	unknown
dijex3876	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3877	*1	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*9	*1/*9	1.5	normal_metabolizer

Article 2

dijex3878	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3879	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3880	*35	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*35	*41	*35/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3881	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3882	*2	*10	1.0	0.25	1.25	normal_metabolizer		*2	*10	*2/*10	1.25	normal_metabolizer
dijex3883	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3884	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3885	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3886	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3887	*10	*10	0.25	0.25	0.5	intermediate_metabolizer		*10	*10	*10/*10	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3888	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3889	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3890	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3891	*1	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*9	*1/*9	1.5	normal_metabolizer
dijex3892	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3893	*2	*29	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*29	*2/*29	1.5	normal_metabolizer
dijex3894	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3895	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3896	*35	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*35	*41	*35/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3897	*4	*35	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*35	*4/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3898	*35	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*35	*35	*35/*35	2.0	normal_metabolizer

Article 2

dijex3899	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3900	*1	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*127	*1/*127	unknown	unknown
dijex3901	*3	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*3	*4	*3/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3902	*4	*35	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*35	*4/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3903	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3904	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3905	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3906	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3907	*35	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer	DEL	*5	*35	*5/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3908	*2	*39	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*39	*2/*39	2.0	normal_metabolizer
dijex3909	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3910	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3911	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3912	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3913	*10	*41	0.25	0.5	0.75	intermediate_metabolizer		*10	*41	*10/*41	0.75	intermediate_metabolizer
dijex3914	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3915	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer	DUP	*1	*2x2	*1/*2x2	3.0	ultrarapid_metabolizer
dijex3916	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3917	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer

Article 2

dijex3918	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3919	*33	*117	1.0	unknown	unknown	unknown		*33	*117	*33/*117	unknown	unknown
dijex3920	*2	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*9	*2/*9	1.5	normal_metabolizer
dijex3921	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3922	*4	*9	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*9	*4/*9	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3923	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3924	*35	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*35	*127	*35/*127	unknown	unknown
dijex3925	*1	*6	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer	DUP	*1	*6x2	*1/*6x2	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3926	*2	*6	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*6	*2/*6	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3927	*2	*10	1.0	0.25	1.25	normal_metabolizer		*2	*10	*2/*10	1.25	normal_metabolizer
dijex3928	*6	*9	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*6	*9	*6/*9	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3929	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3930	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3931	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3932	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3933	*4	*35	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*35	*4/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3934	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3935	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3936	*2	*10	1.0	0.25	1.25	normal_metabolizer		*2	*10	*2/*10	1.25	normal_metabolizer

Article 2

dijex3937	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3938	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3939	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3940	*3	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*3	*4	*3/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3941	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3942	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3943	*2	*3	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*3	*2/*3	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3944	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3945	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3946	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3947	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3948	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3949	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3950	*10	*10	0.25	0.25	0.5	intermediate_metabolizer	DUP	*10x2	*10	*10x2/*10	0.75	intermediate_metabolizer
dijex3951	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3952	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3953	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3954	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3955	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer

Article 2

dijex3956	*33	*33	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*33	*33	*33/*33	2.0	normal_metabolizer
dijex3957	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3958	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3959	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3960	*1	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*127	*1/*127	unknown	unknown
dijex3961	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3962	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3963	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3964	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3965	*10	*35	0.25	1.0	1.25	normal_metabolizer		*10	*35	*10/*35	1.25	normal_metabolizer
dijex3966	*4	*17	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*17	*4/*17	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3967	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3968	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex3969	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex3970	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3971	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3972	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer	DUP	*4x2	*4	*4x2/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3973	*4	*33	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*33	*4/*33	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3974	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3975	*59	*59	0.5	0.5	1.0	intermediate_metabolizer	DEL	*59	*5	*59/*5	0.5	intermediate_metabolizer

Article 2

												r
dijex3976	*9	*33	0.5	1.0	1.5	normal_metabolizer		*9	*33	*9/*33	1.5	normal_metabolizer
dijex3977	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer	DEL	*2	*5	*2/*5	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3978	*1	*3	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*3	*1/*3	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3979	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3980	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3981	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3982	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3983	*3	*3	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer	DEL	*3	*5	*3/*5	0.0	poor_metabolizer
dijex3984	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3985	*4	*33	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*33	*4/*33	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3986	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3987	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3988	*41	*41	0.5	0.5	1.0	intermediate_metabolizer	DEL	*5	*41	*5/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex3989	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3990	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex3991	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer	DUP	*1	*2x2	*1/*2x2	3.0	ultrarapid_metabolizer
dijex3992	*10	*35	0.25	1.0	1.25	normal_metabolizer		*10	*35	*10/*35	1.25	normal_metabolizer
dijex3993	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer

Article 2

dijex3994	*2	*33	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*33	*2/*33	2.0	normal_metabolizer
dijex3995	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex3996	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex3997	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer	DUP	*4	*4	*4x2/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex3998	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex3999	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex4000	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex4001	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4002	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4003	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer	DUP	*1	*2x2	*1/*2x2	3.0	ultrapid_metabolizer
dijex4004	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4005	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4006	*1	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*127	*1/*127	unknown	unknown
dijex4007	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex4008	*4	*86	0.0	unknown	unknown	unknown		*4	*86	*4/*86	unknown	unknown
dijex4009	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer	DUP	*1x2	*4	*1x2/*4	2.0	normal_metabolizer
dijex4010	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4011	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex4012	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex4013	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer

Article 2

dijex4014	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4015	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4016	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer	DUP	*2x2	*41	*2x2/*41	2.5	ultrapid_metabolizer
dijex4017	*2	*3	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*3	*2/*3	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4018	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex4019	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4020	*4	*35	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*35	*4/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4021	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex4022	*2	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*9	*2/*9	1.5	normal_metabolizer
dijex4023	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex4024	*10	*127	0.25	unknown	unknown	unknown		*10	*127	*10/*127	unknown	unknown
dijex4025	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4026	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4027	*4	*10	0.0	0.25	0.25	intermediate_metabolizer		*4	*10	*4/*10	0.25	intermediate_metabolizer
dijex4028	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex4029	*1	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*9	*1/*9	1.5	normal_metabolizer
dijex4030	*2	*3	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*3	*2/*3	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4031	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4032	*1	*3	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*3	*1/*3	1.0	intermediate_metabolizer

Article 2

dijex4033	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer	DUP	*1x2	*4	*1x2/*4	2.0	normal_metabolizer
dijex4034	*4	*35	0.0	1.0	1.0	intermediate_metabolizer		*4	*35	*4/*35	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4035	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown	DEL	*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex4036	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4037	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex4038	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex4039	*1	*20	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*20	*1/*20	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4040	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*2	*4	*2/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4041	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex4042	*1	*33	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*33	*1/*33	2.0	normal_metabolizer
dijex4043	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4044	*4	*127	0.0	unknown	unknown	unknown		*4	*127	*4/*127	unknown	unknown
dijex4045	*1	*9	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*9	*1/*9	1.5	normal_metabolizer
dijex4046	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer	DUP	*1x2	*1	*1x2/*1	3.0	ultrarapid_metabolizer
dijex4047	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4048	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4049	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex4050	*2	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer	DUP	*1x2	*4	*1x2/*4	2.0	normal_metabolizer
dijex4051	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4052	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer

Article 2

												r
dijex4053	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex4054	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4055	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex4056	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4057	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4058	*2	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*2	*41	*2/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex4059	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex4060	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex4061	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4062	*1	*4	1.0	0.0	1.0	intermediate_metabolizer		*1	*4	*1/*4	1.0	intermediate_metabolizer
dijex4063	*2	*22	1.0	unknown	unknown	unknown		*2	*22	*2/*22	unknown	unknown
dijex4064	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex4065	*2	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*35	*2/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex4066	*1	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*35	*1/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex4067	*35	*35	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*35	*35	*35/*35	2.0	normal_metabolizer
dijex4068	*4	*4	0.0	0.0	0.0	poor_metabolizer		*4	*4	*4/*4	0.0	poor_metabolizer
dijex4069	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex4070	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer	DUP	*1	*2x2	*1/*2x2	3.0	ultrarapid_metabolizer
dijex4071	*4	*10	0.0	0.25	0.25	intermediate_metabolizer		*4	*10	*4/*10	0.25	intermediate_metabolizer

Article 2

dijex5386	*2	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*2	*2	*2/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex5387	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex5388	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer
dijex5389	*1	*39	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*39	*1/*39	2.0	normal_metabolizer
dijex5390	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex5391	*1	*127	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*127	*1/*127	unknown	unknown
dijex5392	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex5393	*1	*1	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*1	*1/*1	2.0	normal_metabolizer
dijex5394	*4	*41	0.0	0.5	0.5	intermediate_metabolizer		*4	*41	*4/*41	0.5	intermediate_metabolizer
dijex5395	*1	*122	1.0	unknown	unknown	unknown		*1	*122	*1/*122	unknown	unknown
dijex5396	*1	*41	1.0	0.5	1.5	normal_metabolizer		*1	*41	*1/*41	1.5	normal_metabolizer
dijex5398	*1	*2	1.0	1.0	2.0	normal_metabolizer		*1	*2	*1/*2	2.0	normal_metabolizer

Table S3: *CYP2D6* genotype of all patients

ID	Patient year of birth	CYP2D6 status	Drug received	sentence in medical record (translate)	original sentence in medical record (French)
dijex3686	1922	UM	codeine	codeine intolerance	intolérance à la codéine
dijex3915	1957	UM	codeine and tramadol	Painkiller for the knee causing by a fall in sledge, administration of acetaminophen and morphine (codeine and Tramadol intolerance)	Antalgique pour le genou pour chute de luge, par paracétamol et morphine (intolérance codéine et Tramadol)

Article 2

dijex3777	1952	PM	tramadol	tramadol ineffective	Tamadol inefficace
dijex3997	1978	PM	oxycodone	Completion of numerous boluses of oxycodone but resistance to pain	Réalisation de nombreux bolus d'oxycodone mais résistance des douleurs
dijex4068	1984	PM	oxycodone	we switched his interdoses of morphine to a PCA of Oxycodone on February 8, 2020 which was gradually increased with the introduction of Ketamine	nous avons switché ses interdoses de morphine par une PCA d'Oxycodone le 8 février 2020 qui a été augmentée progressivement avec mise en place de Kétamine
dijex3683	1958	NM	oxycodone	Pain in the humerus well controlled by level 3 analgesics (Oxycodone) then (31/03/2017) TCA of morphine, the doses will be gradually increased during hospitalization until today at 4 mg/h associated flow rate at boluses of 4 mg.	Douleur de l'humérus bien contrôlée par des antalgiques de palier 3 (Oxycodone) puis (31/03/2017) TCA de morphine, les doses seront progressivement augmentées durant l'hospitalisation jusqu'à ce jour à 4 mg/h de débit associées à des bolus de 4 mg.
dijex3687	1953	NM	oxycodone	Oxycodone on demand	Oxycodone à la demande
dijex3700	1987	NM	tramadol	tramadol pump (PCA) well supported	PCA de tramadol bien supporté
dijex3734	1973	NM	oxycodone	oxycodone at the end of life	oxycodone en fin de vie
dijex3759	1944	NM	oxycodone	oxycodone LP 5 & Fentanyl 37mg patch	oxycodone LP 5 & Fentanyl 37mg patch
dijex3813	1963	NM	oxycodone	The analgesic treatment today combines OXYCONTIN 140 mg morning and evening, OXYNORM 20 in interdose, he takes it twice a day.	Le traitement antalgique associé aujourd'hui OXYCONTIN 140 mg matin et soir, OXYNORM 20 en interdose, il en prend 2 fois/jour.

Article 2

dijex3830	1956	NM	oxycodone	Patient taking Oxycodone.	Patiente qui prend de l'Oxycodone.
dijex3850	1964	NM	oxycodone	Oxycodone LP 5 mg morning and evening with interdoses of Oxycodone 5 mg on demand	Oxycodone LP 5 mg matin et soir avec interdoses d'Oxycodone 5 mg à la demande
dijex3873	1950	NM	oxycodone	We renew the analgesic treatment based on FENTANYL 12 mg, OXYCODONE 5 mg	On renouvelle le traitement antalgique à base de FENTANYL 12 mg, OXYCODONE 5 mg
dijex3884	1955	NM	tramadol	Tramadol on demand, marked improvement in pain	Sous Tramadol à la demande, nette amélioration des douleurs
dijex3937	1956	NM	tramadol	It should be remembered that taking TRAMADOL is poorly tolerated.	Rappelons que la prise de TRAMADOL est mal tolérée.
dijex3942	1954	NM	oxycodone	Marked improvement in abdominal pain with Oxycodone LP 10 mg morning and evening and Oxycodone 5 mg on demand	Nette amélioration des douleurs abdominales sous Oxycodone LP 10 mg matin et soir et Oxycodone 5 mg à la demande
dijex4054	1949	NM	oxycodone	PCA oxycodone well tolerated	PCA oxycodone bien toléré
dijex4057	1977	NM	oxycodone	The pain is well controlled with Oxycodone 10 mg, she did not take an interdose.	Les douleurs sont bien contrôlées sous Oxycodone 10 mg, elle n'a pas pris d'interdose.
dijex4069	1947	NM	oxycodone	oxycodone well tolerated	oxycodone bien supporté

Table S4: Comment provides by clinician about opioids

Article 2

ID	Patient year of birth	CYP2D6 status	Drug received	nausea	Grade (CTCAE v5.0)	vomiting	Grade (CTCAE v5.0)
dijex3686	1922	UM	ondansetron	yes	1	no	0
dijex3915	1957	UM	ondansetron	no	0	no	0
dijex4016	1971	UM	ondansetron	yes	2	yes	3
dijex4046	1948	UM	ondansetron	yes	3	yes	3
dijex4070	1949	UM	ondansetron	no	0	no	0
dijex3654	1936	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex3657	1977	NM	ondansetron	yes	3	yes	4
dijex3660	1950	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex3673	1940	NM	ondansetron	yes	1	no	0
dijex367	1949	NM	ondansetron	no	0	no	0

Article 2

6							
dijex368 3	1958	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex368 7	1953	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex368 8	1959	NM	ondansetron	yes	3	no	0
dijex369 7	1949	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex370 0	1987	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex371 5	1948	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex372 8	1970	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex373 4	1973	NM	ondansetron	yes	1	yes	3
dijex374 0	1951	NM	ondansetron	yes	1	no	0
dijex375 9	1944	NM	ondansetron/granisetron	yes	1	no	0

Article 2

dijex379 2	1966	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex379 9	1941	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex380 7	1983	NM	ondansetron	yes	1	no	1
dijex381 2	1969	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex381 3	1963	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex383 0	1956	NM	ondansetron	yes	1	no	1
dijex385 0	1964	NM	ondansetron	yes	1	no	0
dijex385 4	1945	NM	ondansetron	yes	1	no	0
dijex387 3	1950	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex387 9	1939	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex388 4	1955	NM	ondansetron	yes	3	no	0

Article 2

dijex388 8	1946	NM	ondansetron	yes	1	no	0
dijex389 4	1949	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex390 5	1946	NM	ondansetron	yes	1	no	0
dijex390 6	1969	NM	ondansetron/granisetron	yes	1	no	0
dijex392 1	1959	NM	ondansetron	yes	1	no	0
dijex393 7	1956	NM	ondansetron	yes	2	no	0
dijex394 1	1939	NM	ondansetron	yes	2	yes	1
dijex394 2	1954	NM	ondansetron	yes	2	yes	1
dijex394 4	1982	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex396 4	1979	NM	ondansetron	yes	1	yes	1
dijex397 0	1945	NM	ondansetron	no	0	no	0

Article 2

dijex397 1	1942	NM	ondansetron	yes	1	no	0
dijex398 4	1938	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex400 0	1949	NM	ondansetron	yes	1	no	0
dijex400 2	1947	NM	ondansetron	yes	3	yes	4
dijex401 5	1950	NM	ondansetron	yes	3	no	0
dijex402 1	1965	NM	ondansetron	yes	1	yes	1
dijex402 6	1944	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex403 1	1951	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex403 8	1950	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex404 7	1966	NM	ondansetron	no	0	no	0
dijex405 1	1955	NM	ondansetron	yes	1	no	0

Article 2

dijex405 3	1932	NM	ondansetron	yes	3	yes	4
dijex405 4	1949	NM	ondansetron	yes	2	no	0
dijex405 7	1977	NM	ondansetron	yes	3	yes	2

Table S5: Episode of nausea and vomiting notified in clinical records.

Patient	Date of inclusion	all DCI for treatment with hormonotherapy	start of hormonotherapy	end of hormonotherapy	Genotype CYP2D6	Activity CYP2D6	Statut CYP2D6
dijex3914	27/12/2017	TAMOXIFEN	17/01/2014	NK/06/2015	CYP2D6*4/*4	0	PM
dijex3997	01/08/2018	TAMOXIFEN	NK/NK/2014	NK/NK/2014	CYP2D6*4N*/*4	0	PM
dijex4018	24/09/2018	TAMOXIFEN	NK/06/2012	NK/09/2018	CYP2D6*4*/*4	0	PM
dijex3726	04/04/2017	TAMOXIFEN	NK/NK/1993	NK/NK/1998	CYP2D6*1/*4	1	IM
dijex3736	30/03/2017	TAMOXIFEN	NK/09/2011	NK/11/2011	CYP2D6*1/*4	1	IM
dijex3756	19/07/2017	TAMOXIFEN PERTUZUMAB	NK/NK/2016	NK/01/2017	CYP2D6*1/*4	1	IM
dijex3763	20/06/2017	TAMOXIFEN	20/07/2012	01/10/2012	CYP2D6*1/*4	1	IM
dijex3939	03/05/2018	TAMOXIFEN	04/11/2011	NK/NK/2015	CYP2D6*1*/*4	1	IM
dijex3961	08/06/2018	TAMOXIFEN	04/10/2011	NK/04/2014	CYP2D6*1*/*4	1	IM

Article 2

dijex3989	19/07/2018	TAMOXIFEN BEVACIZUMAB	NK/NK/2014	NK/NK/2015	CYP2D6*1/*4	1	IM
dijex3814	10/10/2017	TAMOXIFEN	NK/NK/2002	NK/NK/2006	CYP2D6*1/*41	1,5	NM
dijex3839	07/11/2017	TAMOXIFEN TRASTUZUMAB	13/02/2012	NK/04/2012	CYP2D6*41/*33	1,5	NM
dijex3893	18/10/2017	TAMOXIFEN	NK/07/2011	NK/11/2011	CYP2D6*1/*29	1,5	NM
dijex3999	10/08/2018	TAMOXIFEN	NK/NK/2008	NK/NK/2013	CYP2D6*1/*41	1,5	NM
dijex3658	07/07/2016	TAMOXIFEN	13/03/2015	11/06/2018	CYP2D6*1/*1	2	NM
dijex3762	31/05/2017	TAMOXIFEN	NK/12/2014	NK/04/2016	CYP2D6*2/*2	2	NM
dijex3803	15/09/2017	TAMOXIFEN	22/09/2016	NK/NK/2017	CYP2D6*2/*2	2	NM
dijex3851	23/11/2017	TAMOXIFEN PACLITAXEL	NK/12/2016	NK/07/2017	CYP2D6*1/*2	2	NM
dijex3855	07/12/2017	TAMOXIFEN	12/05/2015	NK/10/2015	CYP2D6*2/*2	2	NM
dijex3964	21/06/2018	TAMOXIFEN	17/04/2015	21/06/2018	CYP2D6*2/*2	2	NM
dijex3990	11/07/2018	TAMOXIFEN TRASTUZUMAB PERTUZUMAB	NK/NK/2014	K	CYP2D6*2/*2	2	NM
dijex4001	14/08/2018	TAMOXIFEN	NK/NK/2000	NK/NK/2003	CYP2D6*1/*2	2	NM
dijex4038	02/10/2018	TRASTUZUMAB TAMOXIFEN	NK/01/2013	NK/07/2014	CYP2D6*2/*2	2	NM
dijex4047	01/02/2018	TAMOXIFEN	19/06/2014	NK/12/2016	CYP2D6*1/*1	2	NM

Table S6: Proportion of metabolizers status for patient received tamoxifen therapy before EXOMA inclusion and overall population.

Article 3

Article 3: Experience and expectations of pharmacogenetic tests in France.

Article 3

Résumé de l'article

Différents tests génétiques furent mis en place pour détecter les variations pharmacogénétiques, allant de l'analyse ciblée du génome au séquençage haut débit de celui-ci. Chacune de ces méthodes possède des avantages et des inconvénients en termes de coût et de puissance de détection. Il est important de combiner plusieurs stratégies dans la détection de ces variations afin de pouvoir optimiser la prise en charge thérapeutique en termes de délai et de coûts. Les évolutions dans le domaine de la biologie moléculaire ont permis de révolutionner la connaissance de notre génome. Le séquençage haut débit couplé à l'utilisation d'outils bioinformatiques permettent l'extraction en une seule analyse de l'ensemble des variations génétiques d'un individu malade à l'échelle de son exome voire de son génome entier. De nombreuses spécialités médicales, comme l'oncologie, la génétique médicale, l'hématologie et l'infectiologie, utilisent cette technologie dans un but diagnostique. À la suite de ces analyses, de nombreuses variations sont détectées, dont des variations sans rapport direct avec la maladie mais en lien avec le traitement. Devant les connaissances pharmacogénétiques acquises durant ces dernières années et l'évolution technologique issues du séquençage haut débit, il est devenu nécessaire de statuer sur l'utilisation des données pharmacogénétiques produites. Les professionnels de santé proches des prescriptions sont les plus concernés. Il s'agit des médecins et des pharmaciens. Le but de cette étude est de questionner les professionnels de santé sur leurs expériences, leurs espérances et leurs connaissances vis à vis de la pharmacogénétique. Nous avons ensuite analysé la formation reçue, l'expérience et l'utilisation des tests en lien avec cette discipline. Nous avons créé un questionnaire de 22 items diffusé aux professionnels de santé francophones. Au total 3189 médecins et pharmaciens ont été invités à répondre à ce questionnaire et 283 l'ont complété. Dans nos répondants, une moitié est constituée de médecins (47,9%) et l'autre est constituée de pharmaciens (52,1 %) ; ces répondants possèdent majoritairement une activité hospitalière (87,6%). Environ un quart des répondants (27,5%) ont déjà prescrit ou recommandé un test pharmacogénétique, une large proportion est favorable à l'incorporation de ces tests dans les systèmes de santé (90,4%) et la majorité (67%) est prête à modifier leurs prescriptions en fonction de ces

Article 3

tests. En revanche, les trois-quarts (76,2%) ne se sentent pas à l'aise vis-à-vis de ces tests et la moitié de ces réponders (65%) ne se sentent pas informés dans la prise de décision des tests pharmacogénétiques. Les raisons évoquées au défaut d'utilisation de ces tests sont le manque d'information à propos de ces tests, du résultat de ces tests, de leurs procédures et le manque de remboursement.

Pourtant nos réponders sont confiants dans les retombées de ces tests et 88,7 % pensent que la pharmacogénétique sera un outil d'optimisation des traitements. Plus de la moitié pensent que ces données devraient être communiquées dans le cadre des examens réalisés pour le Plan France Médecine Génomique.

Pour les connaissances en pharmacogénétique nous avons testé les connaissances des réponders sur les combinaisons gène/molécule suivantes : *HLA-B*/Abacavir, *DPYD*/5 Fluorouracile *DPYD*/Capecitabine et *CYP2D6*/codéine. Moins de la moitié des réponders ont donné la bonne réponse pour les 3 premiers couples et un peu plus de la moitié suivrait les recommandations pour le couple *CYP2D6*/codéine.

Nous avons effectué une régression logistique pour connaître les questions exerçant une influence sur les scores obtenus avec les questions sur les connaissances. Le métier, l'âge, le sentiment de connaissance de la pharmacogénétique sont les variables influençant le plus ce score.

Article 3

Discussion - perspectives

Étant donné l'engouement pour l'implémentation de la pharmacogénétique dans la pratique clinique et la mise en place du plan France médecine génomique 2025 (Laviolle et al., 2019), nous avons souhaité connaître l'attitude et les connaissances des médecins et pharmaciens français vis à vis de la pharmacogénétique pour pouvoir mieux évaluer leurs attentes et leurs besoins éducatifs. Cette étude montre que les médecins et les pharmaciens ont beaucoup d'attentes vis-à-vis de la pharmacogénétique. Une large majorité des répondants sont convaincus que la réponse médicamenteuse peut être partiellement expliquée par les variations génétiques.

Nous avons aussi questionné les praticiens pour savoir s'ils souhaitent que l'on utilise les données issues du Plan France Médecine Génomique 2025 (PFMG). Plus de la moitié des répondants veulent avoir accès aux variations secondaires en lien avec la pharmacogénétique, alors qu'une large majorité souhaite avoir la transmission de ces données dans la pratique courante. Une des raisons de cette différence de proportion est le manque de connaissance à propos du lien génotype-phénotype. Une minorité des répondants souhaite seulement l'information en relation avec le traitement ou l'indication du séquençage de génome.

Si nous comparons avec les travaux effectués dans d'autres pays, le pourcentage d'adoption des tests pharmacogénétiques est plus élevé en France par rapport aux Pays-Bas et par rapport aux USA (27.5% contre 14.7 et 12.9%) (Bank et al., 2017; Overby et al., 2014). Cependant, les Américains furent questionnés en 2012 et les Néerlandais en 2017, nous pouvons aussi supposer que l'utilisation des tests pharmacogénétiques a augmenté durant cette décennie. De plus, pour confirmer cette évolution, Sauver et al en 2016 ont observé que 9% des médecins ayant répondu à leur questionnaire ont discuté des résultats de tests pharmacogénétiques avec leurs patients, nous observons une proportion plus élevée chez nos répondants français (25.7%).

Nous avons observé un fort intérêt pour la pharmacogénétique et plus de 80 % des répondants indiquent qu'un professionnel de santé devrait être bien informé de l'utilisation des tests pharmacogénétiques. Malgré cela, dans notre enquête, 23,7% des médecins et 41,7 % des pharmaciens se sentent informés ou très bien informés sur les tests de pharmacogénétique, en comparaison 10% des médecins américains et 14% des pharmaciens néerlandais se sentent

Article 3

suffisamment informés sur ces tests (Bank et al., 2018; Stanek et al., 2012). Les résultats de cette étude montrent le déficit de connaissances de l'indication et de l'application des tests pharmacogénétiques dans la pratique clinique pour les médecins Français au même titre que les médecins Américains. Cela est à mettre en relation avec le fait que les acteurs de santé interrogés coordonnent et supervisent généralement tous les aspects des soins. Ces acteurs ont reconnu dans le cadre de l'enquête qu'ils devraient être en mesure d'identifier les médicaments nécessitant des tests pharmacogénétiques, d'interpréter et d'appliquer les résultats des tests, de discuter des résultats avec les patients et d'identifier des sources fiables d'informations sur la pharmacogénétique.

Le niveau de connaissances en pharmacogénétique rapporté chez les répondants est cohérent avec une étude chez les médecins et pharmaciens flamands (Edris et al., 2021). Cette étude récente montre que la majorité des médecins et des pharmaciens flamands ne pouvaient pas « identifier les médicaments nécessitant des tests pharmacogénétiques selon l'Agence européenne des médicaments (EMA) » ou ont peu de connaissances sur « l'association de la dihydropyrimidine déshydrogénase avec un effet secondaire ». Il est également intéressant de noter que les pharmaciens flamands obtiennent des scores de connaissance plus élevés que les médecins flamands et nous avons observé la même tendance chez nos répondants français. Le fait que les médecins et les pharmaciens ne se sentent pas à l'aise avec la pharmacogénétique fut corroboré avec leurs scores de connaissances en pharmacogénétique, 11.7% des répondants ont atteint le score maximal.

Le modèle de régression logistique montre que la formation initiale des études de pharmacie et de médecine ne sont pas suffisantes pour obtenir le score maximal, des formations supplémentaires devraient compléter la formation des pharmaciens et des médecins pour obtenir les connaissances suffisantes en pharmacogénétique. Aux USA, la prescription, l'interprétation et le rendu de résultat peuvent être effectués par les pharmaciens et les conseillers en génétique (Mills & Haga, 2013). Cependant, étant donné la disponibilité récente des tests pharmacogénétiques, ces deux professions ont également signalé un besoin éducatif en termes de compétence. Un défi fréquemment cité par les acteurs médicaux lorsqu'ils envisagent des tests pharmacogénétiques est le besoin de recommandations. Dans un effort pour aborder cette composante essentielle, le RNPGx a été formé en 2008 pour développer et diffuser des lignes directrices fondées sur des preuves cliniques. Ces recommandations publiées sont généralement centrées sur des paires gène-médicaments spécifiques et sont à ce jour

Article 3

accessibles. La prédiction du modèle de régression logistique témoigne directement de la nécessité d'une diffusion plus large des recommandations du RNPGx et des ressources supplémentaires (CIPC, DPWG) aux médecins et aux pharmaciens.

De même, la majorité des médecins et pharmaciens français ignorent que des informations pharmacogénétiques sont contenues dans les RCP, la plupart des répondants citent Pubmed comme source d'information. Dans une autre étude (Rahawi et al., 2020), 11,7% des pédiatres en 2018 utilisaient PharmGKB, en 2021 la proportion est légèrement plus élevée chez nos répondeurs français (16.7%). Il est aussi à noter qu'il est difficile d'accéder à l'information pharmacogénétique car elle est souvent incluse dans la section pharmacocinétique ou pharmacodynamie, cette étude appuie davantage sur la nécessité d'avoir une formation sur les ressources pharmacogénétiques pour relever le défi de transformer l'information pharmacocinétique en guide posologique.

Les données récoltées dans cette étude montrent que 90% des participants pensent que la pharmacogénétique pourrait empêcher certaines erreurs médicamenteuses ou diminuer les effets indésirables. Une enquête canadienne (de Denus et al., 2013) montre des résultats similaires (80,0% et 79,1%) ainsi qu'une autre enquête chez des répondants néerlandais (80.3% et 81.3%) (Bank et al., 2018). En revanche, les médecins et pharmaciens sont moins enclins à discuter des résultats des tests de pharmacogénétiques que les pédiatres américains. (68.8% contre 85.7%) (Rahawi et al., 2020). Il est aussi intéressant d'observer qu'il n'existe pas de différence sur le contenu éducationnel entre les médecins et les pharmaciens, mais ces populations diffèrent dans le choix des ressources utilisées (Stanek et al., 2012) et dans l'identification des barrières au déploiement des tests de pharmacogénétiques (Moyer et al., 2017). Nous supposons que la vision de la pharmacogénétique découle principalement d'une pratique empirique de celle-ci.

Les limites de cette étude sont une taille d'échantillon modeste par rapport au nombre de médecins et pharmaciens français ainsi qu'une distribution géographique se limitant au territoire français et une gamme d'expériences avec seulement 9,9% des professionnels ayant répondu qui peuvent limiter la généralisation des résultats. De plus, notre échantillon de répondants peut être biaisé en faveur de ceux plus intéressés par les tests pharmacogénétiques et plus enclins à répondre à une enquête sur le sujet, conduisant à une surestimation potentielle des connaissances et / ou de l'intérêt pour le sujet de l'étude. Enfin, étant donné que notre enquête s'est concentrée sur une cohorte d'un pays développé, une évaluation dans plusieurs

Article 3

pays permettrait une évaluation plus globale des connaissances et des attitudes des médecins et des pharmaciens en matière de pharmacogénétique (Abou Diwan et al., 2019; Albassam et al., 2018)

Notre étude est la première enquête sur les connaissances et les attitudes des médecins et pharmaciens français vis-à-vis de la pharmacogénétique. Ces résultats indiquent clairement que bien que les acteurs de la santé en France aient actuellement un faible niveau de connaissances en pharmacogénétique, la majorité perçoit la pharmacogénétique comme un outil efficace pour améliorer l'efficacité et la sécurité des médicaments. Cette étude souligne également l'importance de développer des ressources éducatives sur la pharmacogénétique pour les médecins et les pharmaciens, notamment en diffusant les recommandations pouvant faciliter la mise en œuvre de la pharmacogénétique dans la pratique clinique.



ELSEVIER

Available online at
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



PHARMACOGENETICS

Experience and expectations of pharmacogenetic tests in France

Simon Verdez^{a,*,b}, Marc Bardou^{c,d}, Yannis Duffourd^{a,b},
Maxime Luu^{d,e}, Christel Thauvin-Robinet^{a,b,f,g},
Laurence Faivre^{a,b,f,g}, Nicolas Picard^h

^a UMR1231 GAD team, Genetics of Developmental Disorders, Inserm – université Bourgogne-Franche Comté, 21000 Dijon, France

^b Unité fonctionnelle innovation en diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU de Dijon Bourgogne, 21000 Dijon, France

^c Centre d'investigation clinique, module épidémiologie clinique/essais cliniques, CHU de Dijon, 21000 Dijon, France

^d Inserm CIC1432, 21000 Dijon, France

^e Centre d'investigation clinique, module plurithématique, CHU de Dijon, 21000 Dijon, France

^f Centre de référence maladies rares « déficiences intellectuelles de causes rares », centre de génétique, FHU-TRANSLAD, CHU de Dijon Bourgogne, 21000 Dijon, France

^g Centre de référence maladies rares « anomalies du développement et syndromes malformatifs », centre de génétique, FHU-TRANSLAD, CHU de Dijon Bourgogne, 21000 Dijon, France

^h Service de pharmacologie et toxicologie, université de Limoges, Inserm U1248, CHU de Limoges, 87042 Limoges, France

Received 24 February 2023; accepted 13 July 2023

KEYWORDS

Genomic medicine;
Pharmacogenetics;
Genome sequencing

Summary Although French genomic medicine is reaching a turning point in its history and the implementation of genome sequencing in routine is being implemented as part of the France Genomic Medicine 2025 Plan (FGMP), many questions about secondary data management remain to be addressed. In particular, the use of pharmacogenetic (PGx) information that can be extracted from genome data is a concern. We sought to analyze the opinion of French health professionals on their desire to have access to this information. For this purpose, we created a 22-item questionnaire on the experiences, attitudes, expectations, and knowledge of French physicians and pharmacists about PGx. We collected the responses in different groups and determined a knowledge score with the last 3 questions of the questionnaire. Then, we

* Corresponding author.
E-mail address: simon.verdez@chu-dijon.fr (S. Verdez).

<https://doi.org/10.1016/j.therap.2023.07.002>

0040-5957/© 2023 Published by Elsevier Masson SAS on behalf of Société française de pharmacologie et de thérapeutique.

Please cite this article as: S. Verdez, M. Bardou, Y. Duffourd et al., Experience and expectations of pharmacogenetic tests in France, *Thérapies*, <https://doi.org/10.1016/j.therap.2023.07.002>

built a prediction model for this score and determined which factors may influence it. Half of the responders were physicians (158/311) and the other half were pharmacists (153/311), and the majority of them worked in a hospital (265/311). Almost two third (62.7%, 195/311) of the responders thought that pharmacogenetic data should be communicated with genomic results for the primary indication within the framework of FGMP, and 89.1% (277/311) of them that PGx tests could be an interesting tool to optimize patients' drug therapy in the future. Only 11.2% (35/311) of the responders reached the maximum knowledge score, while 25.4% (76/311) had already prescribed or recommended a PGx test. This study identified a need for training for French physicians and pharmacists in PGx, particularly given the interest of health professionals in it.

© 2023 Published by Elsevier Masson SAS on behalf of Société française de pharmacologie et de thérapeutique.

Abbreviations

AFGC	Association francophone des généticiens cliniciens
ANPGM	Association nationale des praticiens de génétique moléculaire
ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
CPIC	Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium
DPWG	Dutch Pharmacogenetics Working Group
EMA	European Medicines Agency
FPGM	French Plan for Genomic Medicine
GPCO	Groupe de pharmacologie clinique oncologique
IGNITE	Implementing Genomics in Practice
PGx	pharmacogenetic
RCP	résumé des caractéristiques du produit
RNPGx	Réseau francophone de pharmacogénétiq
SFPO	French Society of Oncological Pharmacy
SPC	summary of product characteristics

Introduction

Genomic medicine is becoming a significant area of interest in France and the French 2025 Plan for Genomic Medicine (FPGM) recognizes this development [1]. The emergence of new health technologies, particularly in the field of diagnosis, allows access to new information, including unsolicited secondary data (i.e., unrelated to the initial indication for the testing) that may allow health professionals to tailor treatments for a given patient. Access to this information has raised ethical issues [2], and practices for reporting secondary genetic results need to be adapted [3].

Pharmacogenetic (PGx) studies how genetic differences influence the variability in patients' responses to drugs. PGx gained in popularity, but PGx intervention in treatment requires the intervention of many health actors who need training. The first actor is the prescriber, who

initiates the treatment and the second is the pharmacist who validates the prescription. The last one is the pharmacologist who might be solicited for therapeutic drug monitoring. All these actors play a vital role in implementing PGx into clinical care. Despite that role, PGx testing still needs to be widely implemented into clinical practice [4]. Different surveys set up in the last decade showed a high interest in PGx, but physicians estimated that they were not adequately informed. Most of them expressed their wish to receive additional training to interpret test results [5–8]. These results stressed the high demand to facilitate access to PGx information [9].

In the USA, in 2013, the National Human Genome Research Institute and the National Institutes of Health initiated the Implementing Genomics in Practice (IGNITE) network as an NIH-funded network dedicated to supporting the implementation of genomics in healthcare [10]. In the Netherlands, the Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) has integrated patients' guidelines into computerized systems for drug prescription, dispensing, and automated medication surveillance [6]. In France, PGx guidelines developed by the "Réseau francophone de pharmacogénétiq" (French Pharmacogenetics Network, RNPGx) provided clear recommendations regarding prescriptions and interpretation of pharmacogenetic results [11–15]. The Pharmacogenomics Knowledge Base (PharmGKB), publicly available online, is responsible for the aggregation, curation, integration, and dissemination of knowledge regarding the impact of human genetic variation on drug response [16]. It reports over 4700 annotations classified regarding their clinical impacts. Moreover, guidelines published by the International Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) [17–19] and by the DPWG [20] are available. Today PGx is freely accessible to physicians and pharmacists but not used in clinical practice. It is essential to identify obstacles using the PGx guidelines in France.

This study aimed to assess the knowledge, experience and expectations of French physicians and pharmacists regarding PGx.

Materials and methods

Study design

We conducted an anonymous, cross-sectional, web-based survey among physicians and pharmacists in France. This survey was performed using LimeSurvey (version 3.25.20, Hamburg, Germany). Physicians and pharmacists (including residents) were invited to participate via an email sent through their professional societies, and communication on social networks. Participants were mainly recruited through the dissemination of the survey by five learning societies, including the "Association francophone des généticiens cliniciens" (Francophone Association of Clinical Geneticists, AFGC), the RNPgX, the "Société française de pharmacie oncologique" (French Society of Oncological Pharmacy, SFPO), the "Groupe de pharmacologie clinique oncologique" (Oncological Clinical Pharmacology Group, GPCO), and the "Association nationale des praticiens de génétique moléculaire" (National Association of Molecular Genetics Practitioners, ANPGM). In addition, the online survey was disseminated to medical residents by social networks (facebook/internes.france) and by student unions mailing lists ("Intersyndicale nationale des internes" [National inter-union of interns], "Société des internes et jeunes généticiens de France" [Society of interns and young geneticists of France], "Fédération nationale des syndicats d'internes en pharmacie et biologie médicale" [National Federation of Pharmacy and Medical Biology Intern Unions]). Physicians were classified according to 28 specialties (surgical specialties being aggregated in one specialty). Pharmacists were represented by 5 specialties, 3 hospital specialties (medical biology, hospital pharmacy, pharmaceutical innovation and research) and 2 private sectors (industry and official).

Participants could complete the survey between the 24th of February 2021 and the 31st of May 2021. Responding to the invitation was wholly voluntary, and results were processed anonymously.

Questionnaire

The questionnaire was constructed by adapting two published surveys [7,9] to compare some answers with the literature. A brief introduction explained the terms PGx and pharmacogenomics and the topics that would be surveyed preceded the questionnaire. The questionnaire consisted of a total of 22 multiple-choice questions. Three multiple-choice questions included an objective knowledge assessment regarding the legislation applicable to pharmacogenetics in France (Q20, Q21, Q22). Q20 is HLA-B*57:01/Abacavir, subject for Q21 is DPYD/5FU and DPYD/Capecitabine, subject for Q22 is CYP2D6/codeine. On a scale of 4 points, one correct answer gives one point. All participants have been separated in 3 groups, participants with a lower score (less than 2), a average score (equal to 2), a high score (more than 2).

The questions, on a four-point Likert scale, asked about knowledge of pharmacogenetics, confidence in pharmacogenetic information, expectation around pharmacogenetics and date of graduation.

Survey analysis

The survey responses of the participants were automatically tabulated and stored in LimeSurvey. Responses were considered in the analysis if all survey pages were completed and each page contained at least one completed answer. A multivariate logistic regression analysis was performed on the factors associated with PGx knowledge. In the first step, factors were identified by stepwise elimination of independent variables, and then regression models evaluated the primary independent variables, adjusting for the secondary variables. Statistical significance in the regression models was evaluated using adjusted ORs, 95% CIs, and associated *P*-values. Two-sided *P*-values < 0.05 were considered significant. All statistical analyses were performed using R version 4.0.5.

Results

Description of responders

In total, 3189 physicians and pharmacists were invited to complete the questionnaire. Three hundred and eleven (9.9%) of the invited participants completed the survey (Supplemental Table 1). Among responders, 50.8% (158/311) were physicians, and 49.2% (153/311) were pharmacists. Most of the responders were working in a hospital (85.2%, 265/311) and 20.9% of them (65/311) had a dual activity (university and hospital) (Table 1). The median graduation year was 2013 (first quartile: 1999 and third quartile: 2019). Among responders, 24.4% (76/311) reported having received training in PGx, mainly through university training (68.4%, 52/76), hospital experience (39.5%, 30/76), or self-training (26.3%, 20/76) (Fig. 1). To the question "With your theoretical knowledge, do you feel comfortable with PGx", most responders (77.8%, 242/311) answered they felt "neither comfortable nor uncomfortable with PGx". The survey showed that only 25.7% (93/311) of responders ordered or recommended a PGx test. The proportion of physicians who have discussed PGx test results was 27.2% (43/158), and the proportion of pharmacists was 14.4% (22/153).

Attitudes toward PGx information and PGx testing

Two third of responders (66.6%, 207/311) declared they felt "really not informed" or "not informed" about the role of pharmacogenetics in therapeutic decisions. As to the source of information used, the most cited resource was scientific literature (78.5%, 244/311), "PubMed" being the most frequent answer in the open comment section. In the second position came "exchanging with colleagues" (61.4%, 191/311) and "recommendations from a learning society" (61.1%, 190/311).

We asked whether the PGx information from PFMG-2025 platforms should be returned to prescribers: 62.7% of the responders (195/311) answered that it would be appropriate (Fig. 1), 18.0% had no opinion (56/311), 7.4% (23/311) responded "No, current knowledge is insufficient for the use of this information", 5.1% (16/311) responded "No, this is

Table 1 Logistic regression model for knowledge score among participants, only questions that have the greatest most significant impact on knowledge score are presented.

Question	Answer	Odd ratio	P-value
Have a score below 2			
Q2) What is your thesis date?	1978,1986	>1000	<0.001
	1987,1996	0.06	0.023
Q3) What is your profession?	Pharmacist	0.3415	0.043
Q6) Based on your theoretical knowledge, are you comfortable with pharmacogenetics?	3	0.111	0.009
Q13) What do you think are the barriers to prescribing pharmacogenetic tests?	4 (a lot)	0.085	0.053
	Lack of information on the procedure for carrying out these tests (no)	0.214	0.005
Q16) In the future, do you feel that a hospital doctor or pharmacist should [...]?	Know which treatments require a pharmacogenetic test ahead of prescribing (no)	0.151	0.005
	Know the treatments that may justify prescribing a pharmacogenetic test if adverse events are identified (no)	4.527	0.040
Have a score above 2			
Q2) What is your thesis date?	1978,1986	>1000	<0.001
Q3) What is your profession?	Pharmacist	6.882	<0.001
Q13) What do you think are the barriers to prescribing pharmacogenetic tests?	No reimbursement and cost of analysis (no)	0.335	0.026
	Lack of training on the use of test results (no)	0.198	0.009
Q19) In your opinion, a pharmacogenetic variant can	I do not know	<0.001	<0.001
P-value inferior or equal to 0.05.			

not the information that sought" and 2.6% (8/311) did not answer.

A large majority of responders (89.1%, 277/311) were in favour of incorporating PGx recommendations into computerized health systems (Fig. 1), 2.6% (n=8/311) were not in favour, and made comments using the following most cited words: "need more information", "increase follow-up" and "create a multidisciplinary expert meeting". Of the 8 responders who were not in favour, 4 mentioned the risk of confusion for the patient. Finally, 8.4% (26/311) did not respond to this question.

To the question "What are the reasons for the small number of PGx testing prescribed", 73.6% (229/311) selected "Lack of information about the indication for those tests", 71.4% (222/311) "Lack of information about the use of the results of those tests", 51.4% (160/311) "Lack of information about the procedure for those tests" and 50.2% (156/311) "Absence of reimbursement and costs of analysis".

Expectations toward PGx testing

On our panel of responders, 61.7% (192/311) thought they would order or counsel PGx testing in the future (Fig. 1), 18.3% (57/311) responded they would not and 19.9% (62/311) did not respond. For those who answered, they would order or counsel PGx testing in the future (n=192), we asked if they would use the result to adapt the prescription. Among responders, 80.7% (155/192) of them responded "yes", 13.0% (25/192) responded "no, I am not trained to it" and 3% (6/192) responded "no, I think the available data do not enable this information to be considered and I prefer to select the dosage proposed in overall population", 4.7% (9/192) did not know (Fig. 2). For the question "Do you think PGx tests will become a tool to optimize a patient's drug therapy in the future?", 86.8% (270/311) of responders answered "fully agree or agree".

We asked what skills a physician or a pharmacist should have, 68.8% (214/311) replied that "Physicians and

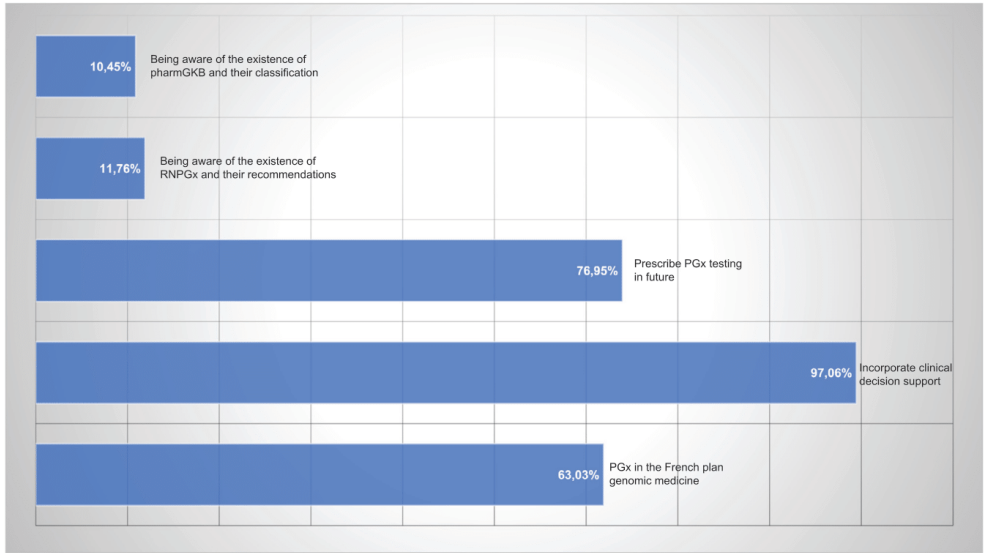


Figure 1. Key results of knowledge and attitudes of French-speaking physicians and pharmacists towards pharmacogenetic testing.

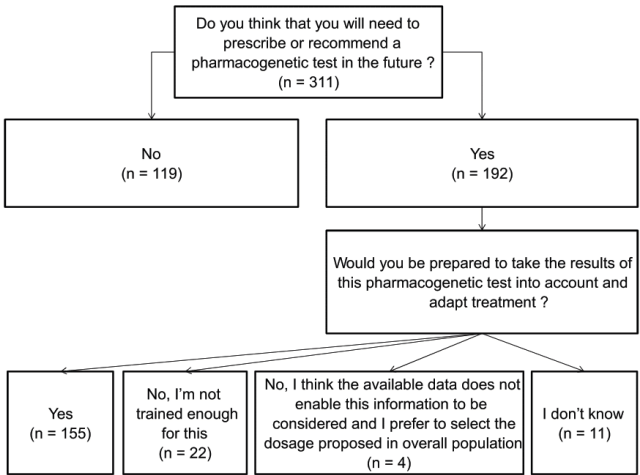


Figure 2. Expectation for PGx testing.

pharmacists should be able to discuss the results of PGx with their patients”, 69.5% (216/311) replied that “Physicians and pharmacists should be able to identify trusted sources of PGx information”. Among responders, 83.3% (259/311) replied that “Physicians and pharmacists should be able to use PGx tests for dosage adjustment, choice of therapy or monitoring”, 84.6% (263/311) replied “Physicians and pharmacists should be able to know the drugs that require a PGx test in the situation of severe side effect” and 88.6%

(263/311) thought that “Physicians and pharmacists should be able to know drugs that require a PGx test before prescription” (Fig. 3).

PGx knowledge

A total of 75.9% (236/311) of the responders were not aware of the existence of the RNPgX, 10.9% (34/311) were aware of the existence of RNPgX, but not their recommendations,

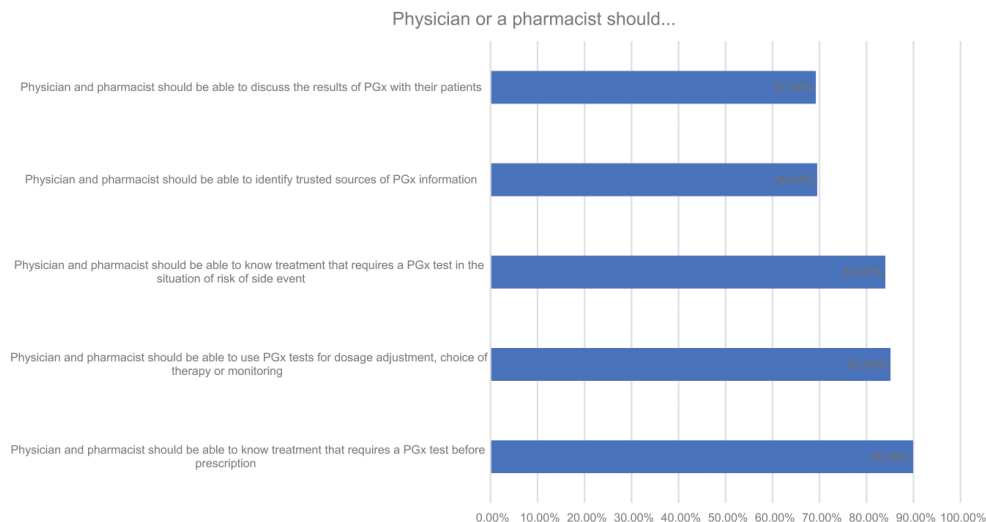


Figure 3. Concerns about the role of physician and pharmacist toward PGx.

11.6% ($n=36/311$) were aware of the existence of RNPxG and their recommendations, 1.6% ($5/311$) did not respond (Fig. 1). Furthermore, 74.3% ($231/311$) of responders were not aware of the existence of the PharmGKB classification, 13.8% ($43/311$) knew its existence but not the content of the classification, 10.3% ($32/311$) knew its existence and how to use it, and 1.6% ($5/311$) did not respond (Fig. 1).

We asked what the implication of a PGx variant was, 90.0% ($280/311$) replied that "a variant can cause a drug overexposure at a standard dose", 90.3% ($281/311$) replied that "a variant can cause a lack of efficacy treatment at a standard dose", 65.3% ($203/311$) replied that "a variant can be fatal to a patient at a standard dose", 52.7% ($164/311$) replied that "a variant can have varying consequences depending on the patient" and 7.4% ($23/311$) replied "I do not know".

We tested responders' knowledge with two PGx questions related to situations requiring a PGx test before a prescription. The first question focused on HLA-B*5701 testing prior to abacavir administration, and 43.7% ($136/311$) gave the correct answer. The second question focused on DPD deficiency testing before the prescription of Capecitabine/5FU, 28.9% ($90/311$) gave the 2 correct drugs, 30.2% ($94/311$) gave only one correct drug.

We also questioned if the physicians and pharmacists would follow the recommendation of the "Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé" (French National Agency for the Safety of Medicines and Health Products – ANSM) if they had access to a PGx result. In our responders, 54.0% ($163/311$) would follow the recommendations and replace the treatment, 2.7% ($8/311$) would not change their prescription or ignore this information, 9.6% ($29/311$) would decrease the dose, 4.0% ($12/311$) did not have a strong opinion, 29.8% ($90/311$) would prefer to check with their local pharmacologist team and finally, 2.9% ($9/311$) did not respond.

Logistic regression analysis

All P -values described in this paragraph are obtained with the regression models (Supplemental Table 2). The score was calculated with questions 20–22 assessing PGx legislation knowledge and only the participants who responded to the four questions were considered ($n=299$). On a scale of zero to four, 17.4% ($52/299$) received a score of null, 25.1% ($75/299$) received a 1, 21.7% ($65/299$) received a 2, 24.1% ($72/299$) received a 3 and 11.7% ($35/299$) received a 4 (maximum score).

For the logistic model to assess predictors of results towards PGx legislation knowledge, we selected responders who responded to all 22 questions ($n=198$). After processing the algorithm, nine questions were kept (Q2, Q3, Q5, Q6, Q8, Q10, Q13, Q16, Q19). Our model attempts to determine whether our respondents score above 2, equal to 2, or below 2. Each answer is considered a variable associated with the chance of having a low score. The same process is performed for answers associated with the chance of having a high score. Our model selected 7 answers for 5 questions (Q2, Q3, Q6, Q13, Q16) associated with the probability of having a low score (Table 1). On the other hand, our model selected 5 answers for 4 questions (Q2, Q3, Q13, Q19) associated with the probability of having a higher score (Table 1). Under the logistic model, participants who had graduated between 1978 and 1986 received a knowledge score lower than 2 or greater than 2 but not equal to 2. Under the same model, being pharmacist received a knowledge greater than 2. In other hand, being comfortable with pharmacogenetics protects to having a lower score but that does not guarantee a higher score. The model prediction accords particular importance to the opinion of participants. Participants who think that "lack of information on the procedure for carrying out pharmacogenetic tests" is not a barrier to prescribing pharmacogenetic tests, have a low probability of having a

score under 2. If the participant thinks that a hospital doctor or pharmacist should not know which treatments require a pharmacogenetic test ahead of prescribing, the model give a low probability of having a score under 2. But the participant thinks that a hospital doctor or pharmacist should not know the treatments that may justify prescribing a pharmacogenetic test if adverse events are identified, the model give a high probability of having a score under 2. Again, participants who think that "No reimbursement and cost of analysis" and "Lack of training on the use of test results" are not barriers to prescribing pharmacogenetic tests, have a low probability of having a score above 2. Finally, participants who do not know what that variant is, have a low probability of having a score above 2.

Discussion

Given the increasing enthusiasm for implementing pharmacogenetics-guided medication prescription and the implementation of the FPGM 2025 in France, we sought to determine physicians' and pharmacist's knowledge and attitudes regarding pharmacogenetics to better assess their expectations and educational needs related to clinical pharmacogenetic testing. This survey showed that French physicians and pharmacists were very positive toward integrating PGx into care. Almost all respondents believe that genetic variants can partially modulate drug response, and many participants have high expectations regarding PGx.

We also considered extracting PGx data from pangenomic sequencing, the FPGM 2025 being currently deployed in the French territory. Close to 62.7% of responders would like access to secondary variants related to PGx, 24.8% have no opinion (or did not answer) and 12.5% would not like. On the other hand, 89.1% of the same responders favored transmitting PGx information with clinical decision support. One possible reason for that difference is the lack of use of pangenomic sequencing in France, resulting in apprehension toward this technology.

PGx test adoption (25.7%) was higher in our survey than in those conducted among Dutch pharmacists or US physicians (14.7 and 12.9%, respectively) [8,21]. Nevertheless, these studies were published in 2012 and 2017, and the use of PGx testing increased during the last decade.

In this study, 25.7% of responders have prescribed or recommended a pharmacogenetic test, although only 23.7% of physicians and 41.7% of pharmacists felt informed or very well informed about PGx tests. Across the Atlantic, 10% of US physicians felt informed or very well informed about PGx [10] and in our European neighborhood, 14% of Dutch pharmacists felt informed or very well informed about PGx [22]. Moreover, our data suggest that a need for more knowledge about the availability of PGx tests and their application in drug therapy is one of the remaining barriers to the clinical implementation of PGx into clinical practice. Nevertheless, we observed a high interest in clinical pharmacogenetics and related education (Q16), as > 80% of all responders indicated that physicians or pharmacists should hold pivotal responsibilities and competencies regarding clinical pharmacogenetic testing.

The knowledge level on pharmacogenetics reported among responders in our study was consistent with previous reports that surveyed Flemish physicians and Flemish pharmacists [23]. In fact, most Flemish physicians and Flemish pharmacists could not "Identify drugs requiring pharmacogenetic testing according to the European Medicines Agency (EMA)" or had little knowledge on "Dihydropyrimidine dehydrogenase association with side effect". The self-reported lack of familiarity with pharmacogenetics among French physicians and pharmacists was corroborated by a direct assessment of their knowledge, as only 11.7% of responders reached the maximum score.

Logistic regression models indicate that training as a pharmacist was not enough to hit the highest score. Additional training should be followed to acquire the necessary skills in the field of PGx. In the USA, pharmacogenetic test ordering, interpretation, and result communication can also be supported by pharmacists and genetic counselors [24]. However, given the only recent availability of clinical pharmacogenetic testing, both professions have also reported an educational need for pharmacogenetic competency [25]. A commonly cited challenge by medical actors when considering clinical pharmacogenetic testing is a need for professional practice guidelines. In an effort to address this vital component, the RNPgX was formed in 2008 to develop and disseminate evidence-based guidelines for pharmacogenetic-guided therapy. These published guidelines are typically centered around specific gene – drug pairs and are available to date [15–19].

Similarly, most French physicians and pharmacists were unaware that some drug labels in the product characteristics (SPC) summary included pharmacogenetic information. Most responders use available databases such as Pubmed for retrieved information about PGx. In the study published by Formea et al. in 2018 [9], 11.7% of pediatric physicians used PharmGKB. The proportion was slightly higher in our French responders (16.7%). The use of specialized PGx information increasing over the years but is still insufficient. Although the pharmacogenetic information included in some SPC can often be found in the pharmacokinetics and pharmacodynamics subsection, this situation makes it difficult for French health professionals to access PGx information.

Our data indicate that approximately 90% of physicians and pharmacists know that PGx could prevent patients from receiving inadequate drugs or doses and that PGx could minimize the risk of adverse events. This agrees with previous studies from Canada [26] or The Netherlands [8] which reported a rating of about 80%. In contrast, French health professionals are less disposed to discuss PGx test results with patients than US pediatrics physicians (68.8% versus 85.7%) [9]. Overall, physicians and pharmacists agreed on the ranking or order of importance for the specific content of pharmacogenetic educational resources but differed in identifying barriers to the PGx testing implementation [27] and sources of information [10].

Limitations of this study include a modest sample size with geographic distribution and a range of experience that may limit the generalizability of results. In addition, our sample of responders may be biased towards those more interested in pharmacogenetic testing and more inclined to respond to a survey on the topic, leading to a potential overestimation of knowledge and/or interest in our study.

Lastly, given that our survey focuses on cohorts from developed countries, an assessment across multiple countries will enable a more generalizable evaluation of physicians' and pharmacists' knowledge and attitudes on pharmacogenetics [28].

In conclusion, our study is the first report regarding French physicians' and pharmacists' knowledge and attitudes toward clinical pharmacogenetics. The survey clearly indicates that French healthcare professionals currently have limited knowledge of pharmacogenetics, but the majority perceives it as an effective tool for enhancing drug efficacy and safety. This study also underscores the importance of developing educational resources on clinical pharmacogenetics for physicians and pharmacists, making therapeutic recommendations and related supports more easily available.

Acknowledgments

We thank the RNPgX, the GPCO, the SFPO, the AFGC, the SFPC, the ISNI, the SIGF and the FNSIP.BM for providing technical support and management of the informatics platform.

Disclosure of interest

The authors declare that they have no competing interest.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.therap.2023.07.002](https://doi.org/10.1016/j.therap.2023.07.002).

References

- [1] Lethimonnier F, Levy Y. Genomic medicine France 2025. *Ann Oncol* 2018;29:783–4.
- [2] Hawkins AK, Ho A, Hayden MR. Lessons from predictive testing for Huntington disease: 25 years on. *J Med Genet* 2011;48:649–50.
- [3] Stoll K, Kubendran S, Cohen SA. The past, present and future of service delivery in genetic counseling: keeping up in the era of precision medicine. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2018;178:24–37.
- [4] Abou Diwan E, Zeitoun RI, Abou Haidar L, Cascorbi I, Khoueiry Zgheib N. Implementation and obstacles of pharmacogenetics in clinical practice: an international survey. *Br J Clin Pharmacol* 2019;85:2076–88.
- [5] St Sauver JL, Bielinski SJ, Olson JE, Bell EJ, Mc Gree ME, Jacobson DJ, et al. Integrating pharmacogenomics into clinical practice: promise vs reality. *Am J Med* 2016;129:1093–9.e1.
- [6] Bank PC, Swen JJ, Guchelaar HJ. A nationwide survey of pharmacists' perception of pharmacogenetics in the context of a clinical decision support system containing pharmacogenetics dosing recommendations. *Pharmacogenomics* 2017;18:215–25.
- [7] Rahawi S, Naik H, Blake KV, Owusu Obeng A, Wasserman RM, Seki Y, et al. Knowledge and attitudes on pharmacogenetics among pediatricians. *J Hum Genet* 2020;65:437–44.
- [8] Stanek EJ, Sanders CL, Taber KAJ, Khalid M, Patel A, Verbrugge RR, et al. Adoption of pharmacogenomic testing by US physicians: results of a nationwide survey. *Clin Pharmacol Ther* 2012;91:450–8.
- [9] Formea CM, Nicholson WT, Vitek CR, Wix KK, McCullough KB, Cunningham JL, et al. Implementation of a pharmacogenomics education program for pharmacists. *Am J Health Syst Pharm* 2018;75:1939–46.
- [10] Cavallari L, Beitelshes A, Blake K, Dressler L, Duarte J, Eley A, et al. The IGNITE Pharmacogenetics Working Group: an opportunity for building evidence with pharmacogenetic implementation in a real-world setting: the IGNITE pharmacogenetics Working Group. *Clin Transl Sci* 2017;10:143–6.
- [11] Picard N, Boyer JC, Etienne-Grimaldi MC, Barin-Le Guellec C, Thomas F, Lorient MA. Pharmacogenetics-based personalized therapy: levels of evidence and recommendations from the French Network of Pharmacogenetics (RNPgX). *Therapie* 2017;72:185–92.
- [12] Lorient MA, Ciccolini J, Thomas F, Barin-Le-Guellec C, Royer B, Milano G, et al. Dépistage du déficit en dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) et sécurisation des chimiothérapies à base de fluoropyrimidines : mise au point et recommandations nationales du GPCO-Uncancer et du RNPgX. *Bull Cancer* 2018;105:397–407.
- [13] Woillard JB, Chouchana L, Picard N, Lorient MA. Pharmacogénétique des immunosuppresseurs : état des connaissances et des pratiques – recommandations du Réseau national de pharmacogénétique (RNPgX). *Therapie* 2017;72:269–84.
- [14] Quaranta S, Dupouey J, Colle R, Verstuyft C. Pharmacogénétique des médicaments antidépresseurs : état des connaissances et des pratiques – recommandations du Réseau national de pharmacogénétique (RNPgX). *Therapie* 2017;72:301–9.
- [15] Quaranta S, Thomas F. Pharmacogénétique des médicaments anticancéreux : état des connaissances et des pratiques – recommandations du Réseau national de pharmacogénétique (RNPgX). *Therapie* 2017;72:193–204.
- [16] Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM, Gong L, Sangkuhl K, Thorn CF, et al. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther* 2012;92:414–7.
- [17] Amstutz U, Henricks LM, Offer SM, Barbarino J, Schellens JHM, Swen JJ, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guideline for dihydropyrimidine dehydrogenase genotype and fluoropyrimidine dosing: 2017 update. *Clin Pharmacol Ther* 2018;103:210–6.
- [18] Bell G, Caudle K, Whirl-Carrillo M, Gordon R, Hikino K, Prows C, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guideline for CYP2D6 genotype and use of ondansetron and tropisetron. *Clin Pharmacol Ther* 2017;102:213–8.
- [19] Caudle KE, Dunnenberger HM, Freimuth RR, Peterson JF, Burtison JD, Whirl-Carrillo M, et al. Standardizing terms for clinical pharmacogenetic test results: consensus terms from the clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC). *Genet Med* 2017;19:215–23.
- [20] Bank P, Caudle K, Swen J, Gammal R, Whirl-Carrillo M, Klein T, et al. Comparison of the guidelines of the clinical pharmacogenetics implementation consortium and the Dutch Pharmacogenetics Working Group. *Clin Pharmacol Ther* 2018;103:599–618.
- [21] Overby CL, Erwin AL, Abul-Husn NS, Ellis SB, Scott SA, Obeng AO, et al. Physician attitudes toward adopting genome-guided prescribing through clinical decision support. *J Pers Med* 2014;4:35–49.
- [22] Bank PC, Swen JJ, Guchelaar HJ. A nationwide cross-sectional survey of pharmacy students on pharmacogenetic testing in The Netherlands. *Pharmacogenomics* 2018;19:311–9.
- [23] Edris A, Vanoverschelde A, Bushaj P, Van Nieuwerburgh F, Lahousse L. Pharmacogenetics in clinical practice: current level of knowledge among Flemish physicians and pharmacists. *Pharmacogenomics J* 2021;21:78–84.

- [24] Mills R, Haga SB. Clinical delivery of pharmacogenetic testing services: a proposed partnership between genetic counselors and pharmacists. *Pharmacogenomics* 2013;14:957–68.
- [25] Haga S, O'Daniel J, Tindall G, Mills R, Lipkus I, Agans R. Survey of genetic counselors and clinical geneticists' use and attitudes toward pharmacogenetic testing. *Clin Genet* 2012;82:115–20.
- [26] de Denus S, Letarte N, Hurlimann T, Lambert JP, Lavoie A, Robb L, et al. An evaluation of pharmacists' expectations towards pharmacogenomics. *Pharmacogenomics* 2013;14:165–75.
- [27] Moyer AM, Rohrer Vitek CR, Giri J, Caraballo PJ. Challenges in ordering and interpreting pharmacogenomic tests in clinical practice. *Am J Med* 2017;130:1342–4.
- [28] Albassam A, Alshammari S, Ouda G, Koshy S, Awad A. Knowledge, perceptions and confidence of physicians and pharmacists towards pharmacogenetics practice in Kuwait. *Rovers J*, éditeur. *PLoS One* 2018;13(9):e0203033.

Article 3

	Doctors		Pharmacists		Overall	
	N	%	N	%	N	%
Do you have a hospital activity ?						
Yes	143	90,5063291	122	79,7385621	265	85,2090032
No	12	7,59493671	27	17,6470588	39	12,5401929
Not answered	3	1,89873418	4	2,61437908	7	2,25080386
	158	100	153	100	311	100
What is your thesis date ?						
[1967,1981)	1	0,63291139	1	0,65359477	2	0,64308682
[1981,1996)	26	16,4556962	18	11,7647059	44	14,14791
[1996,2010)	39	24,6835443	22	14,379085	61	19,6141479
[2010,2025)	92	58,2278481	112	73,2026144	204	65,5948553
	158	100	153	100	311	100
Have you received any training in pharmacogenetics ?						

Article 3

Yes	25	15,8227848	51	33,3333333	76	24,437299
No	128	81,0126582	96	62,745098	224	72,0257235
Not answered	5	3,16455696	6	3,92156863	11	3,53697749
	158	100	153	100	311	100
Based on your theoretical knowledge, are you comfortable with pharmacogenetics ?						
1	78	49,3670886	43	28,1045752	121	38,9067524
2	50	31,6455696	71	46,4052288	121	38,9067524
3	24	15,1898734	25	16,3398693	49	15,755627
4	5	3,16455696	14	9,1503268	19	6,10932476
Not answered	1	0,63291139	0	0	1	0,32154341
	158	100	153	100	311	100
Have you ever prescribed or recommended a pharmacogenetic test ?						
Yes	41	25,9493671	38	24,8366013	79	25,4019293
No	117	74,0506329	108	70,5882353	225	72,3472669

Article 3

Not answered	0	0	7	4,5751634	7	2,25080386
	158	100	153	100	311	100
Have you discussed a pharmacogenetic test result with your patients ?						
Yes	43	27,2151899	22	14,379085	65	20,9003215
No	115	72,7848101	120	78,4313725	235	75,562701
Not answered	0	0	11	7,18954248	11	3,53697749
	158	100	153	100	311	100
Do you feel well informed about the role of pharmacogenetics in therapeutic decision-making ?						
1	64	40,5063291	36	23,5294118	100	32,1543408
2	55	34,8101266	52	33,9869281	107	34,4051447
3	24	15,1898734	39	25,4901961	63	20,2572347
4	13	8,2278481	24	15,6862745	37	11,8971061
Not answered	2	1,26582278	2	1,30718954	4	1,28617363
	158	98,7341772	153	98,6928105	311	100

Article 3

What sources of information would you consult if you had a question about pharmacogenetics ?						
Scientific literature						
Yes	125	79,1139241	119	77,7777778	244	78,4565916
No	33	20,8860759	34	22,2222222	67	21,5434084
	158	100	153	100	311	100
Exchange between colleagues						
Yes	111	70,2531646	80	52,2875817	191	61,414791
No	47	29,7468354	73	47,7124183	120	38,585209
	158	100	153	100	311	100
Recommendation of learned society	P=0.0					
	85					
Yes	89	56,3291139	101	66,0130719	190	61,0932476
No	69	43,6708861	52	33,9869281	121	38,9067524
	158	100	153	100	311	100

Article 3

Product Characteristics Summary (RCP)						
Yes	49	31,0126582	68	44,4444444	117	37,6205788
No	109	68,9873418	85	55,5555556	194	62,3794212
	158	100	153	100	311	100
EMA website						
Yes	6	3,79746835	11	7,18954248	17	5,46623794
No	152	96,2025316	142	92,8104575	294	94,5337621
	158	100	153	100	311	100
ANSM website						
Yes	27	17,0886076	34	22,2222222	61	19,6141479
No	131	82,9113924	119	77,7777778	250	80,3858521
	158	100	153	100	311	100
High Health Authority (HAS) website						
Yes	42	26,5822785	35	22,875817	77	24,7588424
No	116	73,4177215	118	77,124183	234	75,2411576

Article 3

	158	100	153	100	311	100
PharmGKB website						
Yes	16	10,1265823	36	23,5294118	52	16,7202572
No	142	89,8734177	117	76,4705882	259	83,2797428
	158	100	153	100	311	100
More Internet searches						
Yes	19	12,0253165	29	18,9542484	48	15,4340836
No	139	87,9746835	124	81,0457516	263	84,5659164
	158	100	153	100	311	100
Others						
Yes	5	3,16455696	3	1,96078431	8	2,57234727
No	153	96,835443	150	98,0392157	303	97,4276527
	158	100	153	100	311	100
France, as part of the laboratories of the						

Article 3

Plan France Genomic Medicine, has implemented the prescription of pan-economic analyses. These analyses allow the extraction of data related to the patient's pathology but also the extraction of data related to pharmacogenetics. Do you think it is desirable to pass on this information to the doctors in charge of the patient if the patient consents ?						
Yes	105	66,4556962	90	58,8235294	195	62,7009646
No, I don't think there's enough knowledge to be able to use this information right now	8	5,06329114	15	9,80392157	23	7,39549839
No, this is not the information sought by the analysis	11	6,96202532	5	3,26797386	16	5,14469453
I don't know	28	17,721519	28	18,3006536	56	18,0064309
Other	6	3,79746835	15	9,80392157	21	6,75241158
	158	100	153	100	311	100
Some facilities in the United States and						

Article 3

the Netherlands have chosen to include alerts in patients' medical records in the event of a pharmacogenetic variant that may interfere with medication management.						
Yes	136	86,0759494	141	92,1568627	277	89,0675241
No	6	3,79746835	2	1,30718954	8	2,57234727
Not answered	16	10,1265823	10	6,53594771	26	8,36012862
	158	100	153	100	311	100
What do you think are the barriers to prescribing pharmacogenetic tests ?						
No reimbursement and cost of analysis						
Yes	68	43,0379747	88	57,5163399	156	50,1607717
No	90	56,9620253	65	42,4836601	155	49,8392283
	158	100	153	100	311	100
Lack of information on the procedure for carrying out these tests						

Article 3

Yes	86	54,4303797	74	48,3660131	160	51,4469453
No	72	45,5696203	79	51,6339869	151	48,5530547
	158	100	153	100	311	100
Lack of information on the indication of these tests						
Yes	121	76,5822785	108	70,5882353	229	73,6334405
No	37	23,4177215	45	29,4117647	82	26,3665595
	158	100	153	100	311	100
Lack of training on the use of test results						
Yes	117	74,0506329	105	68,627451	222	71,3826367
No	41	25,9493671	48	31,372549	89	28,6173633
	158	100	153	100	311	100
I don't have an opinion						
Yes	11	6,96202532	6	3,92156863	17	5,46623794
No	147	93,0379747	147	96,0784314	294	94,5337621

Article 3

	158	100	153	100	311	100
Do you think you will be required to prescribe or recommend a pharmacogenetic test in your professional practice in the future ?						
Yes	84	53,164557	108	70,5882353	192	61,7363344
No	37	23,4177215	20	13,0718954	57	18,3279743
Not answered	37	23,4177215	25	16,3398693	62	19,9356913
	158	100	153	100	311	100
Do you think pharmacogenetic testing will be a tool to optimize drug treatments ?						
1	2	1,26582278	1	0,65359477	3	0,96463023
2	16	10,1265823	8	5,22875817	24	7,7170418
3	75	47,4683544	50	32,6797386	125	40,192926
4	55	34,8101266	90	58,8235294	145	46,6237942
Not answered	10	6,32911392	4	2,61437908	14	4,50160772

Article 3

	158	100	153	100	311	100
In the future, do you feel that a hospital doctor or pharmacist should [...]? (Several possible answers)						
Know which treatments require a pharmacogenetic test ahead of prescribing						
Yes	134	84,8101266	140	91,503268	274	88,1028939
No	24	15,1898734	13	8,49673203	37	11,8971061
	158	100	153	100	311	100
Know the treatments that may justify prescribing a pharmacogenetic test if adverse events are identified						
Yes	130	82,278481	133	86,9281046	263	84,5659164
No	28	17,721519	20	13,0718954	48	15,4340836
	158	100	153	100	311	100

Article 3

Be able to discuss pharmacogenetic test results with their patients						
Yes	106	67,0886076	108	70,5882353	214	68,8102894
No	52	32,9113924	45	29,4117647	97	31,1897106
	158	100	153	100	311	100
Use pharmacogenetic tests for dosing, therapy selection or monitoring						
Yes	119	75,3164557	140	91,503268	259	83,2797428
No	39	24,6835443	13	8,49673203	52	16,7202572
	158	100	153	100	311	100
Identify reliable sources of pharmacogenetic information						
Yes	105	66,4556962	111	72,5490196	216	69,4533762
No	53	33,5443038	42	27,4509804	95	30,5466238
	158	100	153	100	311	100
The French-language pharmacogenetic						

Article 3

network (RNPGx) is an association of pharmacogeneticists from the hospital world. As part of this association, working groups make recommendations on the use of pharmacogenetic tests. Are you familiar with the French-language pharmacogenetics network and their recommendations?						
I know the RNPGx and I know their recommendations	10	6,32911392	26	16,9934641	36	11,5755627
I know the RNPGx but I don't know their recommendations	12	7,59493671	22	14,379085	34	10,9324759
I don't know the RNPGx	133	84,1772152	103	67,3202614	236	75,8842444
Not answered	3	1,89873418	2	1,30718954	5	1,60771704
	158	100	153	100	311	100
The PharmGKB site has defined a classification of pharmacogenetic variants based on a level of evidence regarding clinical impact.						
I know this classification	8	5,06329114	24	15,6862745	32	10,2893891

Article 3

I know the principle but not the detail	22	13,9240506	21	13,7254902	43	13,8263666
I don't know her	126	79,7468354	105	68,627451	231	74,2765273
Not answered	2	1,26582278	3	1,96078431	5	1,60771704
	158	100	153	100	311	100
In your opinion, a pharmacogenetic variant can: (several possible answers)						
Cause over-exposure of a drug taken at a conventional dose						
Yes	139	87,9746835	141	92,1568627	280	90,0321543
No	19	12,0253165	12	7,84313725	31	9,96784566
	158	100	153	100	311	100
Being responsible for inefficiency in a conventional dose treatment						
Yes	138	87,3417722	143	93,4640523	281	90,3536977
No	20	12,6582278	10	6,53594771	30	9,64630225
	158	100	153	100	311	100

Article 3

Resulting in the death of a patient for a drug taken at a conventional dose						
Yes	94	59,4936709	109	71,2418301	203	65,2733119
No	64	40,5063291	44	28,7581699	108	34,7266881
	158	100	153	100	311	100
The same variant can have varying consequences from patient to patient						
Yes	85	53,7974684	79	51,6339869	164	52,733119
No	73	46,2025316	74	48,3660131	147	47,266881
	158	100	153	100	311	100
I don't know						
Yes	15	9,49367089	8	5,22875817	23	7,39549839
No	143	90,5063291	145	94,7712418	288	92,6045016
	158	100	153	100	311	100
The European Medicines Agency (EMA) and the National Agency for the						

Article 3

Safety of Medicines and Health Products (ANSM) are requesting screening for the allele HLA-B-5701 before initiation of treatment. What is the molecule involved?						
Right answer	53	33,5443038	83	54,248366	136	43,7299035
Wrong answer	103	65,1898734	63	41,1764706	166	53,3762058
Not answered	2	1,26582278	7	4,5751634	9	2,89389068
	158	100	153	100	311	100
The EMA and ANSM are requesting screening for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency (DPD) before initiation of treatment. What molecules are involved ?						
Capecitabine						
Yes	24	15,1898734	73	47,7124183	97	31,1897106
No	134	84,8101266	80	52,2875817	214	68,8102894
	158	100	153	100	311	100

Article 3

5 Fluorouracile						
Yes	55	34,8101266	122	79,7385621	177	56,9131833
No	103	65,1898734	31	20,2614379	134	43,0868167
	158	100	153	100	311	100
Suppose you have access to pharmacogenetic information from one of your patients and that following mild-intensity acute pain resistant to paracetamol, you are considering prescribing Codeine for an analgesic purpose. This patient has a pharmacogenetic variant on the CYP2D6 gene giving him several functional copies of this gene. According to CPR, codeine is contraindicated for patients known to be ultra-fast CYP2D6 metabolizers. What would be your position?						
I take this information into account and propose to replace codeine with another	83	52,5316456	80	52,2875817	163	52,4115756

Article 3

analgesic treatment						
I take this information into account by requesting increased monitoring of my patient and I propose to lower the doses of codeine	8	5,06329114	21	13,7254902	29	9,32475884
take this information into account when requesting increased monitoring of my patient but I do not change my prescription	1	0,63291139	4	2,61437908	5	1,60771704
I don't take this alert into account	2	1,26582278	1	0,65359477	3	0,96463023
I don't have an opinion	8	5,06329114	4	2,61437908	12	3,8585209
I check with my school's pharmacology team before I make a final decision	52	32,9113924	38	24,8366013	90	28,9389068
Not answered	4	2,53164557	5	3,26797386	9	2,89389068
	158	100	153	100	311	100

Table SI: Characteristics of responders.

Question	Answer	Odd ratio	Confidence interval (5%)	p-value
Have a score below 2				
Q2) What is your thesis date?	1978,1986	182 430	[49 426-673 310]	P<0.001
	1987,1996	0.06	[0.005-0.68]	P=0.023

Article 3

	2006,2015	0.603	[0.067-5.455]	P=0.652
	2016,2025	0.205	[0.030-1.414]	P=0.108
Q3) What is your profession?	Pharmacist	0.3415	[0.120-0.967]	P=0.043
Q5) Have you received any training in pharmacogenetics ?	Yes	3.686	[0.905-15.01]	P=0.069
Q6) Based on your theoretical knowledge, are you comfortable with pharmacogenetics ?	1 (not at all)	1.716	[0.586-5.020]	P=0.324
	3	0.111	[0.02-0.583]	P=0.009
	4 (a lot)	0.085	[0.007-1.035]	P=0.053
Q8) Have you discussed a pharmacogenetic test result with your patients?	Yes	0.407	[0.102-1.620]	P=0.202
Q10) What sources of information would you consult if you had a question about pharmacogenetics?	Scientific literature (no)	0.571	[0.183-1.787]	P=0.336
	Recommendation of learned society (no)	2.664	[0.956-7.424]	P=0.061
Q13) What do you think are the barriers to prescribing pharmacogenetic tests?	No reimbursement and cost of analysis (no)	0.957	[0.373-2.457]	P=0.927
	Lack of information on the procedure for carrying out these tests (no)	0.214	[0.073-0.627]	P=0.005
	Lack of training on the use of test results (no)	1.947	[0.654-5.799]	P=0.232
Q16) In the future, do you feel that a hospital doctor or pharmacist should [...] ?	Know which treatments require a pharmacogenetic test ahead of prescribing (no)	0.151	[0.004-0.564]	P=0.005
	Know the treatments that may justify prescribing a pharmacogenetic test if adverse	4.527	[1.072-19.11]	P=0.040

Article 3

	events are identified (no)			
Q19) In your opinion, a pharmacogenetic variant can :	I don't know	3.027	[0.247- 37.13]	P=0.387
Have a score above 2				
Q2) What is your thesis date?	1978,1986	113 520	[30 757-418 990]	P<0.001
	1987,1996	1.278	[0.138-11.88]	P=0.829
	2006,2015	0.664	[0.074-5.934]	P=0.714
	2016,2025	0.234	[0.035-1.587]	P=0.137
Q3) What is your profession?	Pharmacist	6.882	[2.228-21.26]	P<0.001
Q5) Have you received any training in pharmacogenetics ?	Yes	0.778	[0.218- 2.773]	P=0.698
Q6) Based on your theoretical knowledge, are you comfortable with pharmacogenetics ?	1 (not at all)	0.656	[0.201-2.143]	P=0.485
	3	2.196	[0.576-8.370]	P=0.249
	4 (a lot)	1.223	[0.161-9.274]	P=0.846
Q8) Have you discussed a pharmacogenetic test result with your patients?	Yes	2.208	[0.622-7.839]	P=0.846
Q10) What sources of information would you consult if you had a question about pharmacogenetics?	Scientific literature (no)	2.438	[0.726-8.187]	P=0.150
	Recommendation of learned society (no)	0.739	[0.240-2.275]	P=0.598
Q13) What do you think are the barriers to prescribing pharmacogenetic tests?	No reimbursement and cost of analysis (no)	0.335	[0.128-0.878]	P=0.026
	Lack of information on the procedure for carrying out these tests (no)	1.231	[0.420-3.611]	P=0.705

Article 3

	Lack of training on the use of test results (no)	0.198	[0.059-0.669]	P=0.009
Q16) In the future, do you feel that a hospital doctor or pharmacist should [...] ?	Know which treatments require a pharmacogenetic test ahead of prescribing (no)	0.304	[0.056-1.661]	P=0.169
	Know the treatments that may justify prescribing a pharmacogenetic test if adverse events are identified (no)	0.902	[0.190-4.284]	P=0.897
Q19) In your opinion, a pharmacogenetic variant can :	I don't know	0.0000003	[0.0000003-Inf]	P<0.001

Table SII: Logistic regression model for scoring prediction.

Article 3

SUPPLEMENTARY MATERIALS AND METHODS

Dear Colleague and student

Pharmacogenetics studies the link between genetic information and drug response. Genetic data can be extracted using different methods, including pangenomic sequencing (sequencing of all genes). These data extracted in the context of the diagnosis of a disease could be used in the prevention of drug side effects or lack of response. We would like to hear from Francophone medical and pharmaceutical practitioners about the use of this data.

So, we ask you to devote **10 minutes** of your time to us to complete the questionnaire below:

What is your situation about pharmacogenetics?

We need to know more about your background and experience with pharmacogenetics.

1) What country do you practice in? For France, please specify the region.

- France: Hauts de France
- France: Normandy
- France: Ile de France
- France: Grand Est
- France: Brittany
- France: Loire Country
- France: Centre Val de Loire
- France: Burgundy Franche County
- France: New Aquitaine
- France: Auvergne Rhône Alpes
- France: Occitanie
- France: Provence Alpes Côte d'azur

- Belgium
- Canada: Quebec
- Switzerland
- Tunisia

- Others:

2) What is your thesis date?

- [Menu drop-down date]

3) What is your profession?

- doctor
 - Anesthesiologist-Resuscitator
 - Medical biology

Article 3

- cardiology
- surgery
- dermatology
- Hepato-Gastroenterology
- Medical genetics
- geriatrics
- gynaecology
- haematology
- immunology
- Infectiology
- General Medicine
- Internal Medicine
- Physical medicine and rehabilitation
- nephrology
- neurology
- obstetrics
- oncology
- ophthalmology
- otolaryngology
- paediatrics
- pneumology
- psychiatry
- radiology
- rheumatology
- public health
- urology
- Non-Specialist
- Other

- pharmacist
 - Medical biology
 - Hospital Pharmacy
 - Innovation Pharmaceutical Research or Specialized Pharmacy
 - Pharmacist Officine
 - Pharmacist Industry

4) Do you have a hospital activity?

- Yes
 - In what status?
 - Professor of Universities-Hospital Practitioner
 - Associate Professor in The Universities-Hospital Practitioner
 - Hospital Practitioner

Article 3

- Contractual Hospital Practitioner
 - Assistant Professor
 - Hospital-University Assistant or Assistant Clinic Head
 - internal
 - Other: specify
- No
- 5) Have you received any training in pharmacogenetics?
- Yes
 - Practical training by companionship
 - Hospital internship
 - Training at boarding school
 - Self
 - literature
 - congress
 - University education
 - 2nd cycle of the medical/pharmacy curriculum
 - 3rd cycle of the medical/pharmacy curriculum
 - No
- 6) Based on your theoretical knowledge, are you comfortable with pharmacogenetics?
- 1 (very uncomfortable)
 - 2
 - 3
 - 4 (very comfortable)
- 7) Have you ever prescribed or recommended a pharmacogenetic test?
- Yes
 - No
 - I don't know
- 8) Have you discussed a pharmacogenetic test result with your patients?
- Yes
 - No
 - I don't know

What is your attitude towards pharmacogenetic information?

People with a pharmacogenetic variant may justify a dose change or the introduction of alternative therapy.

- 9) Do you feel well informed about the role of pharmacogenetics in therapeutic decision-making?
- 1 (very not informed)
 - 2

Article 3

- 3
- 4 (well informed)

10) What sources of information would you consult if you had a question about pharmacogenetics? [Attitude]

- Scientific literature
- Exchange between colleagues
- Recommendation of learned society
- Product Characteristics Summary (RCP)
- EMA website
- ANSM website
- High Health Authority (HAS) website
- PharmGKB website
- More Internet searches
- Others: specify

11) France, as part of the laboratories of the Plan France Genomic Medicine, has implemented the prescription of pan-economic analyses. These analyses allow the extraction of data related to the patient's pathology but also the extraction of data related to pharmacogenetics. [Attitude]

Do you think it is desirable to pass on this information to the doctors in charge of the patient if the patient consents :

- Yes
- No, this is not the information sought by the analysis
- No, I don't think there's enough knowledge to be able to use this information right now
- I don't know
- Other: Specify

12) Some facilities in the United States and the Netherlands have chosen to include alerts in patients' medical records in the event of a pharmacogenetic variant that may interfere with medication management. [Attitude]

What do you think?

- Are you in favor of it?
 - Yes
 - You are the prescriber, what would be your reaction
 - 1) I will follow these recommendations by changing my prescription
 - 2) I'm not sure that would change my prescribing attitude
 - 3) Other: clarify
 - No
 - What are the reasons?
 - 1) I do not think this is appropriate given the lack of knowledge about these tests

Article 3

- 2) I am not in favor of it because it could lead to confusion
- 3) I don't think it's going to help
- 4) Other: clarify

State of pharmacogenetic tests

Pharmacogenetic tests are now prescribed for a small number of molecules.

13) What do you think are the barriers to prescribing pharmacogenetic tests?

- No reimbursement and cost of analysis
- Lack of information on the procedure for carrying out these tests
- Lack of information on the indication of these tests
- Lack of training on the use of test results
- I don't have an opinion

The future of pharmacogenetic testing

The use of the tests is not the same in different countries, what are the prospects of these tests?

14) Do you think you will be required to prescribe or recommend a pharmacogenetic test in your professional practice in the future?

- Yes
 - If so, would you be willing to consider the results of this pharmacogenetic test to adapt a patient's treatment?
 - Yes
 - No, I'm not trained enough for that.
 - No, I think the available data do not allow this information to be considered to date, and I prefer to stick to recommendations for dosages proposed in the general population.
 - I don't know
- No
- I don't know

15) Do you think pharmacogenetic testing will be a tool to optimize drug treatments?

- 1 (not at all)
- 2
- 3
- 4 (yes it would)

16) In the future, do you feel that a hospital doctor or pharmacist should [...]? (Several possible answers)

- Know which treatments require a pharmacogenetic test ahead of prescribing
- Know the treatments that may justify prescribing a pharmacogenetic test if adverse events are identified
- Be able to discuss pharmacogenetic test results with their patients
- Use pharmacogenetic tests for dosing, therapy selection or monitoring
- Identify reliable sources of pharmacogenetic information

Article 3

What is your knowledge about pharmacogenetics?

Pharmacogenetics combines skills from genetics and pharmacology. It is currently not used in the common healthcare. That is why we would like to know your knowledge of pharmacogenetics.

- 17) The French-language pharmacogenetic network (RNPGx) is an association of pharmacogeneticists from the hospital world. As part of this association, working groups make recommendations on the use of pharmacogenetic tests.

Are you familiar with the French-language pharmacogenetics network and their recommendations?

- I know the RNPGx and I know their recommendations
- I know the RNPGx but I don't know their recommendations
- I don't know the RNPGx

- 18) The PharmGKB site has defined a classification of pharmacogenetic variants based on a level of evidence regarding clinical impact.

- I know this classification
- I know the principle but not the detail
- I don't know her

- 19) In your opinion, a pharmacogenetic variant can: (several possible answers)

- Cause over-exposure of a drug taken at a conventional dose
- Being responsible for inefficiency in a conventional dose treatment
- Resulting in the death of a patient for a drug taken at a conventional dose
- The same variant can have varying consequences from patient to patient
- I don't know

- 20) The European Medicines Agency (EMA) and the National Agency for the Safety of Medicines and Health Products (ANSM) are requesting screening for the allele HLA-B-5701 before initiation of treatment. What is the molecule involved?

- Carbamazepine
- Ritonavir
- Phenytoin
- Abacavir
- Hydroxychloroquine
- I don't know

- 21) The EMA and ANSM are requesting screening for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency (DPD) before initiation of treatment. What molecules are involved?

- Tafinlar
- Maraviroc
- Capécitabine
- Voriconazole
- Isoniazid
- Cetuximab

Article 3

- 5 Fluorouracile
- Hydroxychloroquine
- I don't know

22) Suppose you have access to pharmacogenetic information from one of your patients and that following mild-intensity acute pain resistant to paracetamol, you are considering prescribing Codeine for an analgesic purpose. This patient has a pharmacogenetic variant on the *CYP2D6* gene giving him several functional copies of this gene. According to CPR, codeine is contraindicated for patients known to be ultra-fast CYP2D6 metabolizers.

What would be your position?

- I take this information into account and propose to replace codeine with another analgesic treatment
- I take this information into account by requesting increased monitoring of my patient and I propose to lower the doses of codeine
- I take this information into account when requesting increased monitoring of my patient but I do not change my prescription
- I don't take this alert into account
- I check with my school's pharmacology team before I make a final decision
- I don't have an opinion

Discussion & Perspectives

Discussion & Perspectives

Les travaux réalisés durant cette thèse se sont portés sur l'extraction et l'analyse de données préexistantes d'ES. Les objectifs ont mené à la création de pipelines d'analyse et la mise en place de méthodes d'étude de variations pharmacogénétiques détectables par ES. Le but étant d'explorer les possibilités de l'ES pour cette discipline en repoussant les limites bioinformatiques rencontrées lors de l'analyse de gènes pharmacogénétiques.

La réutilisation de données d'ES de routine montre que l'extraction de variants pharmacogénétiques est possible en parallèle de l'analyse à visée diagnostique. La réanalyse des données de 535 individus et la mise en place de deux pipelines ont montré une possibilité d'utilisation de l'ES jusqu'alors peu explorée. De plus, le questionnaire soumis aux professionnels de santé a montré l'intérêt de ces derniers vis-à-vis de ces données.

Ces travaux de recherche ont montré qu'il était possible d'extraire des informations supplémentaires à partir des données de ES afin de mieux sécuriser la prise médicamenteuse. Ainsi l'analyse de deux cohortes a permis d'identifier 4 gènes analysables par ES avec un variant de niveau 1 selon la base PharmGKB (*CYP2C9*, *HLA-B*, *DPYD*, *CYP2D6*). Ces méthodes pourront être implémentées par les équipes souhaitant utiliser l'information pharmacogénétique contenue dans l'ES. Ces travaux ont été réalisés dans un cadre de recherche translationnelle qui vise à améliorer la prise en charge des patients. Il s'agit en effet de transférer au domaine hospitalier les découvertes de la recherche afin qu'elles bénéficient au plus grand nombre de patients.

Néanmoins, le prérequis nécessaire pour l'utilisation des données pharmacogénétiques dans le cadre du séquençage d'exome est la prise en compte de ces gènes dans le kit de capture. Les pratiques actuelles en oncologie sont basées sur l'utilisation de panels restreints rendant impossible l'exploitation des données pharmacogénétiques. Alors que les domaines comme le diagnostic des maladies rares ou la recherche d'une étiologie génétique aux troubles du développement tendent vers des analyses de l'ensemble du génome. Par exemple, dans l'article 2 le *CYP2C9* n'était pas capturé ainsi que la zone promotrice de l'*UGT1A1*, par conséquent, l'analyse exhaustive des gènes pharmacogénétiques ne fut pas réalisée à cause de la technologie choisie.

Discussion & Perspectives

Plusieurs perspectives peuvent être relevées dans le but de favoriser l'utilisation des données secondaires pharmacogénétiques issues de l'ES : l'intégration dans le PFMG de pipelines pharmacogénétiques spécifiques aux indications du plan, l'amélioration des techniques de séquençage puis des pipelines bioinformatiques et enfin une modification des recommandations actuelles.

Le projet France Médecine Génomique a pour objectif le déploiement du séquençage de génome pour l'ensemble de la population française. La prescription du séquençage couvre plusieurs pré-indications contenues dans 3 domaines (maladies rares, cancers et maladies communes). La pré-indication du plan « Epilepsies pharmacorésistantes à début précoce » est la seule pré-indication permettant d'analyser les variations en lien avec le traitement. Il est donc envisageable d'imaginer un rendu personnalisé de l'information pharmacogénétique au sein du plan. Le groupe de travail multidisciplinaire intégré à la plateforme AURAGEN a déterminé 4 gènes à analyser (*POLG*, *CYP2C9*, *HLA-A*, *HLA-B*). [Eposter #27717 <https://assises-genetique.org/sessions-de-posters-affiches/>, consulté le 02/10/2022] Nous avons effectué plusieurs réunions pour établir un compte-rendu type d'interprétation des variations identifiées. Dans un premier temps les variations sur les gènes *POLG* et *CYP2C9* sont retenues comme d'intérêt pour le patient. L'interprétation des gènes du groupe HLA est prévue pour fin d'année 2022. Les problèmes soulevés sont multiples : les contraintes éthiques et réglementaires, la nécessité d'une coopération multidisciplinaire et la vulgarisation des connaissances pour la rendre accessible aux prescripteurs. Lors de la constitution de cette liste nous nous sommes basés sur les travaux portés par l'équipe (Thauvin-Robinet et al., 2019) et sur l'article 1 de cette thèse.

Durant nos travaux nous avons utilisé l'information donnée par l'indication de cette ES pour fournir une analyse des variations pharmacogénétiques adaptée à la pathologie du patient et nous avons montré l'intérêt des cliniciens pour ces données. Cette approche possède l'avantage de ne pas noyer le clinicien dans l'information en communiquant une information restreinte aux molécules ayant une forte probabilité d'être administrée. En cas de demande des cliniciens, l'information contenue pour les autres molécules reste accessible par une réanalyse bioinformatique.

Une étude rétrospective de 308 familles contenant 1 101 individus, durant laquelle les données d'exome ont été utilisées pour détecter 21 variations de niveau 1A et 1B, n'a pas réussi à trouver de situations où la personne porteuse de la variation a reçu le médicament associé. (E. M. J. Lee et al., 2016) En comparaison, malgré le fait que nos cohortes de départ étaient plus petites, nous avons trouvé des cas où les patients porteurs d'un variant avaient reçu la molécule associée. Notre méthode de

Discussion & Perspectives

sélection des variations en fonction de la pathologie se trouve plus efficace dans l'optique d'un rendu automatique.

Plus récemment, l'étude PREPARE (Swen et al., 2023) conduite dans 7 pays européens montre que le risque d'effets indésirables médicamenteux peut être diminué de 30 % par l'étude de 12 pharmacogènes (*CYP2B6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP3A5*, *DPYD*, *F5*, *HLA-B*, *SLCO1B1*, *TPMT*, *UGT1A1*, *VKORC1*). Il est intéressant de noter que les médicaments les plus fréquemment prescrits en lien avec un pharmacogène sont l'atorvastatine, le clopidogrel et le tacrolimus. Si nous nous concentrons sur les patients avec une variation actionnable, l'atorvastatine, le tramadol et le clopidogrel ressortent en premier. L'apparition en deuxième position du tramadol est due à la forte proportion de patient avec une variation actionnable pour le *CYP2D6* (44,6%, 3098/6944). La plus forte incidence ainsi que les effets indésirables les plus sévères sont reportés dans une étude clinique contre le cancer. Nos résultats de l'article 2 sont cohérents avec cette étude avec, au sein de notre cohorte, un nombre de patient porteurs d'une variation sur le *CYP2D6* et ayant reçu un opiacé, le plus élevé que tout autre couple gène-molécule. Cependant, nous avons choisi de séparer les couples gènes-molécules pour analyser la possibilité de détecter ces variations avec l'ES à visée diagnostique et leurs impacts cliniques.

Sur un autre plan, une large étude rétrospective (5288 patients témoins versus 22 357 patients contrôles) a évalué les conséquences économiques de la mise en œuvre d'un panel pharmacogénétique de 23 gènes chez des patients âgées de 65 ans ou plus montre une réduction d'environ 7000 dollars par patient des frais médicaux directs (Jarvis et al., 2022). Ces résultats sont en accord avec les nôtres et soutiennent la mise en œuvre d'une liste restreinte de gènes d'intérêts en routine.

Nous avons utilisé plusieurs outils informatiques pour les gènes du groupe HLA et le pour gène *CYP2D6*. Ces outils ont pour fonction de déterminer la séquence de l'allèle paternel et de l'allèle maternel pour les gènes étudiés mais aussi de déterminer si le gène est concerné dans un remaniement de structure. L'ensemble de ces outils est dépendant de la connaissance que nous avons de ces gènes et un travail de veille scientifique est indispensable pour les tenir à jour.

Néanmoins les performances de ces outils sont dépendantes de la technologie utilisée. Par exemple, l'utilisation du génome ainsi qu'une séquence de référence actualisée améliore le génotypage du *CYP2D6*. (Chen et al., 2021) On peut supposer que les génotypages des gènes du groupe HLA et du *CYPD6* seront améliorés par l'apport de nouvelles technologies.

Une piste d'amélioration de ces outils est proposée par l'utilisation de données long-reads. Une équipe hollandaise a montré qu'il est possible d'améliorer la détection des phases grâce au séquençage

Discussion & Perspectives

long-reads. De plus, la longueur moyenne des lectures issues de ce séquençage permet d'avoir une "encapsulation" du gène étudié. Ainsi, nous avons la possibilité de déterminer les lectures issues de l'allèle maternel de celles issues de l'allèle paternel et donc de pouvoir déterminer les variations ou les remaniements portés par une phase. (van der Lee et al., 2021)

Si cette technologie tend à s'imposer dans un avenir proche, alors les données pharmacogénétiques seront plus facilement exploitables d'un point de vue bioinformatique (Pirmohamed, 2023). En effet, les gènes pharmacogénétiques connus avec un fort polymorphisme (*CYP2D6*, *G6PD* et gènes du groupe des HLA) sont d'une taille inférieure à 16kb. Donc la copie complète d'un gène peut être encapsulée dans une lecture long-reads facilitant la détection des remaniements. Néanmoins, l'interprétation de ces données sera toujours dépendante de la connaissance de ces gènes et pourra aboutir à des modifications des recommandations. Un exemple récent est le calcul du score d'activité du *CYP2D6* qui est régulièrement modifié en fonction de la connaissance du gène. (Bell et al., 2017; Crews et al., 2014, 2021)

Depuis plus de 10 ans, les groupes de travail tel que le CPIC, la DPWG et le RNPGx produisent des recommandations sur l'utilisation des données pharmacogénétiques. L'agrégation de ces recommandations a conduit à la création de plusieurs bases de données accessibles gratuitement en ligne.

Malheureusement, ces données restent peu utilisées alors que 88 à 99% de la population possède au moins un variant de niveau 1 ou de niveau 2 selon la classification PharmGKB. Une étude rétrospective sur 600 patients montre que 16% (96/600) de ces patients reçoivent la molécule associée sans que le statut soit pris en compte (Smith et al., 2019). Une étude anglaise montre que 80% des patients ont reçu un médicament avec une interaction gène-molécule sur une période de 20 ans (Kimpton et al., 2019). L'ensemble de ces situations ne conduit pas automatiquement à une mise en jeu du pronostic vital mais demande à minima une surveillance accrue sous la forme d'un Suivi Thérapeutique Pharmacologique (STP). Une étude se basant sur les bases de données des pharmacies (27 millions de prescriptions), montre que 8,6% à 9,1% de ces prescriptions nécessiteraient un changement de thérapie ou de posologie à la suite d'un test pharmacogénétique. Les classes de médicaments les plus souvent impliqués sont : les antidépresseurs, les antalgiques, les antiépileptiques, les antibiotiques et les statines. Une méta-analyse suggère qu'il est possible de d'augmenter le taux de rémission des patients atteints de dépression d'un facteur de 1,71 par rapport à ceux ayant les soins courants (Bousman et al., 2019).

Discussion & Perspectives

L'étude PG4KDS de l'hôpital St Jude (<http://www.stjude.org/pg4kds>) produit depuis 2011 des tests prédictifs pharmacogénétiques à leurs patients en incluant les données secondaires. Les résultats sont transférés par un pharmacien hospitalier sur un serveur informatique puis sont librement disponibles pour les patients par le biais d'une page web. Au mois de juin 2019, 11 gènes pour 35 molécules sont analysés dans les dossiers médicaux chez 5100 patients. (Haidar et al., 2019) Une procédure de réanalyse est aussi mise en place pour mettre à jour les informations des patients porteurs d'un ou plusieurs allèles déficients. Ces outils permettent la mise en place d'une médecine préventive qui a pour but de lutter contre l'iatrogénie médicamenteuse.

Une seconde approche développée est l'utilisation de panel de gènes « VIP », c'est cette option qui a été retenue dans l'étude européenne PREPARE. Le panel regroupe 12 gènes et 49 molécules en une seule analyse. La diffusion de l'information pharmacogénétique se traduit par la création d'une carte avec un QR-code. Le QR-code oriente vers le site contenant les recommandations pharmacogénétiques du DPWG. C'est donc l'utilisation de données secondaires issue d'un panel de gènes, le patient n'ayant pas encore reçu le traitement mais possède l'information contenue dans ce panel.

En Angleterre, la médecine génomique est déjà intégrée au sein du National Health Service (NHS) avec 7 NHS Genomic Medicine Service Alliances supervisant et coordonnant l'intégration de la génomique dans le soin. Aujourd'hui, la majorité des tests génomiques disponibles concernent les maladies rares et les cancers. Mais pour l'année 2022, un panel de gènes fut créé pour l'intégration aux autres tests sans pour autant en connaître la composition.

Si nous regardons d'un point de vue plus global, la majorité des efforts pour l'implémentation de la pharmacogénétique sont effectués aux USA et en Europe (Abou Diwan et al., 2019). Néanmoins, l'exemple du Japon est intéressant, où l'ensemble des tests pharmacogénétiques avec la mention « requis » sont remboursés. (Shimazawa & Ikeda, 2018)

L'American College of Medical Genetics and Genomics préconise le rendu d'un seul pharmacogène (*RYRI*) dans ses recommandations. (Miller et al., 2021) L'ACMG reconnaît l'aspect efficience des coûts de l'ES et du GS pour la génération d'un profil pharmacogénétique, profil qui pourrait être utilisé de manière préventive. La raison évoquée pour exclure les autres pharmacogènes est : "l'existence de difficultés pour les laboratoires de rendre les variations cliniquement exploitables dans ces gènes et pour la reconstruction des haplotypes".

Les arguments portés par l'ACMG portent sur 2 exemples. Le premier exemple est la non-détection des régions promotrices pour les gènes *CYP2C19* et *VKORC1* avec l'ES. L'allèle recherché

Discussion & Perspectives

étant le CYP2C19*17 et le -1639G>A pour *VKORC1*. Le second exemple est la non-reconstruction des haplotypes avec le *CYP2D6*.

Plusieurs articles réclament l'intégration des données pharmacogénétiques dans les recommandations de l'ACMG (Haga, 2021; Smith et al., 2020). Les barrières relevées portent plus sur l'utilité clinique de cette information que sur leur provenance. D'un point de vue global, le rendu des variations secondaires pharmacogénétiques représente une petite partie de l'ensemble des variations secondaires. Leur implication sur l'état mental des patients est bien moindre par rapport aux autres variations impliquant des maladies, ce qui bien plus aisé que les variants impliquant un risque de maladie. (Houdayer et al., 2019) On observe une dichotomie entre le monde médical et les patients, une partie des professionnels de santé français réfutant en bloc cette information « non voulue » et les patients acceptant cette information pharmacogénétique au même titre qu'un examen médical. (Haga, 2021)

Dans les recommandations du CPIC, l'utilisation des données secondaires est abordée. Seulement, cette utilisation est dans le cadre de la prévention de maladies en lien avec les gènes étudiés. L'utilisation de l'information produite sur un gène n'est pas intégrée pour l'ensemble des couples gène-médicaments. L'utilisation des données dans le cadre d'un séquençage pangénomique est exclue ainsi que la découverte fortuite de variations lors d'un panel de gène. De grosses disparités existent entre les différents laboratoires dans la gestion de ces données, les données de génome représentant la technologie avec le plus de « risque » de découvrir ces données non-voulues. (Haga & Moaddeb, 2014) Dans notre cohorte, la technologie utilisée n'a pas eu d'effet sur l'impact clinique attendu, impact clinique sur le patient qui devrait être notre priorité.

L'aspect médico-économique fut exploré par de nombreuses équipes (Aaltio et al., 2022; Groessl et al., 2018; Johnson et al., 2012; Pink et al., 2014; Verhoef et al., 2012). D'un point de vue plus global, ces études ont montré un bénéfice sur le cout financier de la pharmacogénétique dans le système de soin (57% des études sélectionnées), si nous occultons le cout de séquençage alors ce taux augmente fortement (75% des études). Les molécules les plus analysées sont la warfarine, l'azathioprine, clopidogrel, abacavir et carbamazépine (Verbelen et al., 2017). Plus récemment, le CPIC a retenu 108 études évaluant le cout de la pharmacogénétique, 77% études concluent sur la rentabilité des tests pharmacogénétiques (Morris et al., 2022).

Au cours de nos travaux, nous avons rencontré ces obstacles. Lors du premier article, nous avons calculé la profondeur moyenne pour chaque variation. Pour le variant de la zone promotrice spécifique au CYP2C19*17, nous avons une profondeur moyenne de 39 lectures avec nos kits de

Discussion & Perspectives

capture. Le deuxième exemple porte sur les CNV dans le gène *CYP2D6*. Cependant, nous avons montré dans l'article 2 que les phénotypes extrêmes (métaboliseurs lents et ultra-rapides) peuvent être détectés dans le séquençage d'exome. Récemment, une autre équipe a publié leur pipeline de détection des variations pharmacogénétiques (Klanderma et al., 2022).

Le travail durant cette thèse apporte des arguments supplémentaires dans la prise en compte et le rendu des variations secondaires issues du séquençage haut débit d'exome ou de génome. Nous avons montré qu'il était possible d'extraire des variations à haut impact clinique et que cette information pouvait prédire la survenue d'effets indésirables en lien avec les médicaments.

Pour le premier article sur l'épilepsie, si nous nous comparons avec une étude turque étudiant une cohorte de 102 patients ayant reçu 4mg/kg/jour (dose d'entretien) (Ozkaynakci et al., 2015), les auteurs observent des taux maximums proche de ceux trouvés dans notre étude (29.8 mg/l pour le *CYP2C*3* et 17.6 mg/l pour le *CYP2C9*2*). Les concentrations obtenues sont donc en accord avec les génotypes prédits.

Pour le second article des cancers solides, nous avons obtenu pour chaque cas l'effet attendu dans les proportions attendues. Pour le couple *DPYD/5FU*, nous avons une clairance plus élevée pour les patients porteurs d'une variation. Pour le couple *CYP2D6/opioïde*, les patients métaboliseurs lents ou extrêmes ont tous présenté un effet indésirable relevé par les cliniciens. Pour le couple *CYP2D6/ondansétron*, nous avons des proportions similaires à celles observées dans une autre étude (Candiotti et al., 2005). Enfin, nous avons pour le couple *CYP2D6/tamoxifène*, une fréquence deux fois plus élevée chez les patients ayant effectué une rechute après un traitement par tamoxifène que dans la population générale, ce facteur 2 est dans les recommandations (Goetz et al., 2018).

L'arrivée des données pharmacogénétiques dans les comptes-rendus de séquençage haut débit pourrait avoir un impact sur le conseil en génétique. L'ajout d'unités d'enseignement est nécessaire dans la formation des conseillers en génétiques pour le rendu de ces variations. Mais le plus gros du travail sera de sensibiliser les prescripteurs et les pharmaciens hospitalier à la génétique. Il existe un gros intérêt de ces professions de santé vis-à-vis de ces données et beaucoup d'espérances comme nous l'avons montré avec notre troisième article. Seulement, le niveau de formation reste insuffisant pour ces professionnels et ce manque de formation se retrouve dans les résultats du score de connaissance.

Plusieurs solutions existent pour préparer à l'utilisation de ces données : la mise en place de formations, la publication de recommandations à jour, l'intégration des pharmacogénéticiens aux réunions pluridisciplinaires (Holzer et al., 2021).

Bibliographie

Aaltio, J., Hyttinen, V., Kortelainen, M., Frederix, G. W. J., Lönnqvist, T., Suomalainen, A., & Isohanni, P.

(2022). Cost-effectiveness of whole-exome sequencing in progressive neurological disorders of children. *European Journal of Paediatric Neurology*, 36, 30-36.

<https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2021.11.006>

Abou Diwan, E., Zeitoun, R. I., Abou Haidar, L., Cascorbi, I., & Khoueiry Zgheib, N. (2019). Implementation and obstacles of pharmacogenetics in clinical practice : An international survey. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 85(9), 2076-2088. <https://doi.org/10.1111/bcp.13999>

<https://doi.org/10.1111/bcp.13999>

ACMG Board of Directors. (2019). The use of ACMG secondary findings recommendations for general population screening : A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 21(7), 1467-1468. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0502-5>

Albassam, A., Alshammari, S., Ouda, G., Koshy, S., & Awad, A. (2018). Knowledge, perceptions and confidence of physicians and pharmacists towards pharmacogenetics practice in Kuwait. *PLOS ONE*, 13(9), e0203033. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203033>

Alexanderson, B., Price Evans, D. A., & Sjoqvist, F. (1969). Steady-state plasma levels of nortriptyline in twins : Influence of genetic factors and drug therapy. *BMJ*, 4(5686), 764-768.

<https://doi.org/10.1136/bmj.4.5686.764>

Allorge, D., Beaune, P.-H., Becquemont, L., Bessard, G., Bezieau, S., Boisdron-Celle, M., Boyer, J.-C., Broly, F., Dhaneens, C.-M., Fonrose, X., Gagnieu, M.-C., Gamelin, E., Gozé, C., Jacqz-Aigrain, E., Loric, S., Lorient, M.-A., Marquet, P., Morel, A., Namour, B., ... Verstuyft, C. (2007). [Molecular pharmacogenetics in hospital laboratories in France : Current data and future prospects]. *Annales Pharmaceutiques Francaises*, 65(6), 371-381. [https://doi.org/10.1016/s0003-4509\(07\)74196-2](https://doi.org/10.1016/s0003-4509(07)74196-2)

Ressources web

- Aronson, J. K. (2009). Medication errors : What they are, how they happen, and how to avoid them. *QJM*, *102*(8), 513-521. <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcp052>
- Bank, P. C., Swen, J. J., & Guchelaar, H.-J. (2017). A nationwide survey of pharmacists' perception of pharmacogenetics in the context of a clinical decision support system containing pharmacogenetics dosing recommendations. *Pharmacogenomics*, *18*(3), 215-225. <https://doi.org/10.2217/pgs-2016-0138>
- Bank, P. C., Swen, J. J., & Guchelaar, H.-J. (2018). A nationwide cross-sectional survey of pharmacy students on pharmacogenetic testing in The Netherlands. *Pharmacogenomics*, *19*(4), 311-319. <https://doi.org/10.2217/pgs-2017-0175>
- Bell, G., Caudle, K., Whirl-Carrillo, M., Gordon, R., Hikino, K., Prows, C., Gaedigk, A., Agundez, J., Sadhasivam, S., Klein, T., & Schwab, M. (2017). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for *CYP2D6* genotype and use of ondansetron and tropisetron. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *102*(2), 213-218. <https://doi.org/10.1002/cpt.598>
- Boisdron-Celle, M., Remaud, G., Traore, S., Poirier, A. L., Gamelin, L., Morel, A., & Gamelin, E. (2007). 5-Fluorouracil-related severe toxicity : A comparison of different methods for the pretherapeutic detection of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Cancer Letters*, *249*(2), 271-282. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2006.09.006>
- Bonnin, R. A., Naas, T., & Dortet, L. (2017). Impact du séquençage d'ADN à haut débit sur la surveillance des épidémies de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques. *feuilles de Biologie*, *14*.
- Bousman, C. A., Arandjelovic, K., Mancuso, S. G., Eyre, H. A., & Dunlop, B. W. (2019). Pharmacogenetic tests and depressive symptom remission : A meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmacogenomics*, *20*(1), 37-47. <https://doi.org/10.2217/pgs-2018-0142>
- Bruel, A.-L., Nambot, S., Quéré, V., Vitobello, A., Thevenon, J., Assoum, M., Moutton, S., Houcinat, N., Lehalle, D., Jean-Marçais, N., Orphanomix Physician's Group, Chevarin, M., Jouan, T., Poë, C., Callier, P., Tisserand, E., Philippe, C., Them, F. T. M., Duffourd, Y., ... Thauvin-Robinet, C. (2019). Increased

Ressources web

diagnostic and new genes identification outcome using research reanalysis of singleton exome sequencing. *European Journal of Human Genetics: EJHG*, 27(10), 1519-1531.

<https://doi.org/10.1038/s41431-019-0442-1>

Candiotti, K. A., Birnbach, D. J., Lubarsky, D. A., Nhuch, F., Kamat, A., Koch, W. H., Nikoloff, M., Wu, L., & Andrews, D. (2005). The Impact of Pharmacogenomics on Postoperative Nausea and Vomiting.

Anesthesiology, 102(3), 543-549. <https://doi.org/10.1097/00000542-200503000-00011>

Cappellini, M., & Fiorelli, G. (2008). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *The Lancet*, 371(9606), 64-74. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60073-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60073-2)

Caspar, S. M., Schneider, T., Stoll, P., Meienberg, J., & Matyas, G. (2021). Potential of whole-genome sequencing-based pharmacogenetic profiling. *Pharmacogenomics*, 22(3), 177-190.

<https://doi.org/10.2217/pgs-2020-0155>

Caudle, K. E., Dunnenberger, H. M., Freimuth, R. R., Peterson, J. F., Burlison, J. D., Whirl-Carrillo, M., Scott, S. A., Rehm, H. L., Williams, M. S., Klein, T. E., Relling, M. V., & Hoffman, J. M. (2017). Standardizing terms for clinical pharmacogenetic test results : Consensus terms from the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC). *Genetics in Medicine*, 19(2), 215-223.

<https://doi.org/10.1038/gim.2016.87>

Chang, M.-S. (2012). Tamoxifen Resistance in Breast Cancer. *Biomolecules and Therapeutics*, 20(3), 256-267.

<https://doi.org/10.4062/biomolther.2012.20.3.256>

Chassagne, A., Pélissier, A., Houdayer, F., Cretin, E., Gautier, E., Salvi, D., Kidri, S., Godard, A., Thauvin-Robinet, C., Masurel, A., Lehalle, D., Jean-Marçais, N., Thevenon, J., Lesca, G., Putoux, A., Cordier, M.-P., Dupuis-Girod, S., Till, M., Duffourd, Y., ... Faivre, L. (2019). Exome sequencing in clinical settings : Preferences and experiences of parents of children with rare diseases (SEQUAPRE study). *European Journal of Human Genetics*, 27(5), 701-710. <https://doi.org/10.1038/s41431-018-0332-y>

Ressources web

- Chen, X., Shen, F., Gonzaludo, N., Malhotra, A., Rogert, C., Taft, R. J., Bentley, D. R., & Eberle, M. A. (2021). Cyrius : Accurate CYP2D6 genotyping using whole-genome sequencing data. *The Pharmacogenomics Journal*, 21(2), 251-261. <https://doi.org/10.1038/s41397-020-00205-5>
- Chua, E. W., Cree, S. L., Ton, K. N. T., Lehnert, K., Shepherd, P., Helsby, N., & Kennedy, M. A. (2016). Cross-Comparison of Exome Analysis, Next-Generation Sequencing of Amplicons, and the iPLEX® ADME PGx Panel for Pharmacogenomic Profiling. *Frontiers in Pharmacology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00001>
- 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. (2006). A Rapid and Inexpensive Method for Anticipating Severe Toxicity to Fluorouracil and Fluorouracil-based Chemotherapy: *Therapeutic Drug Monitoring*, 28(5), 678-685. <https://doi.org/10.1097/01.ftd.0000245771.82720.c7>
- Clayton, T. A., Baker, D., Lindon, J. C., Everett, J. R., & Nicholson, J. K. (2009). Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(34), 14728-14733. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904489106>
- Col, N. (1990). The Role of Medication Noncompliance and Adverse Drug Reactions in Hospitalizations of the Elderly. *Archives of Internal Medicine*, 150(4), 841. <https://doi.org/10.1001/archinte.1990.00390160093019>
- Collie-Duguid, E. S., Etienne, M. C., Milano, G., & McLeod, H. L. (2000). Known variant DPYD alleles do not explain DPD deficiency in cancer patients. *Pharmacogenetics*, 10(3), 217-223. <https://doi.org/10.1097/00008571-200004000-00002>
- Collins, F. S., & Varmus, H. (2015). A new initiative on precision medicine. *The New England Journal of Medicine*, 372(9), 793-795. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1500523>
- Crews, K. R., Gaedigk, A., Dunnenberger, H. M., Leeder, J. S., Klein, T. E., Caudle, K. E., Haidar, C. E., Shen, D. D., Callaghan, J. T., Sadhasivam, S., Prows, C. A., Kharasch, E. D., & Skaar, T. C. (2014). Clinical

Ressources web

Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for Cytochrome P450 2D6 Genotype and Codeine Therapy : 2014 Update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 95(4), 376-382.

<https://doi.org/10.1038/clpt.2013.254>

Crews, K. R., Monte, A. A., Huddart, R., Caudle, K. E., Kharasch, E. D., Gaedigk, A., Dunnenberger, H. M., Leeder, J. S., Callaghan, J. T., Samer, C. F., Klein, T. E., Haidar, C. E., Van Driest, S. L., Ruano, G., Sangkuhl, K., Cavallari, L. H., Müller, D. J., Prows, C. A., Nagy, M., ... Skaar, T. C. (2021). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for CYP2D6, OPRM1, and COMT genotype and select opioid therapy. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*.

<https://doi.org/10.1002/cpt.2149>

Dagostino, C., Allegri, M., Napolioni, V., D'Agnelli, S., Bignami, E., Mutti, A., & van Schaik, R. H. (2018).

CYP2D6 genotype can help to predict effectiveness and safety during opioid treatment for chronic low back pain : Results from a retrospective study in an Italian cohort. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine, Volume 11*, 179-191. <https://doi.org/10.2147/PGPM.S181334>

Dalén, P., Frengell, C., Dahl, M.-L., & Sjöqvist, F. (1997). Quick Onset of Severe Abdominal Pain After Codeine in an Ultrarapid Metabolizer of Debrisoquine: *Therapeutic Drug Monitoring*, 19(5), 543-544.

<https://doi.org/10.1097/00007691-199710000-00011>

De Luca, O., Salerno, G., De Bernardini, D., Torre, M. S., Simmaco, M., Lionetto, L., Gentile, G., & Borro, M.

(2022). Predicting Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency and Related 5-Fluorouracil Toxicity : Opportunities and Challenges of DPYD Exon Sequencing and the Role of Phenotyping Assays. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 13923. <https://doi.org/10.3390/ijms232213923>

de Denus, S., Letarte, N., Hurlimann, T., Lambert, J.-P., Lavoie, A., Robb, L., Sheehan, N. L., Turgeon, J., & Vadnais, B. (2013). An evaluation of pharmacists' expectations towards pharmacogenomics.

Pharmacogenomics, 14(2), 165-175. <https://doi.org/10.2217/pgs.12.197>

Ressources web

- de Leon, J., Dinsmore, L., & Wedlund, P. (2003). Adverse Drug Reactions to Oxycodone and Hydrocodone in CYP2D6 Ultrarapid Metabolizers: *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 23(4), 420-421.
<https://doi.org/10.1097/01.jcp.0000085421.74359.60>
- Edris, A., Vanoverschelde, A., Bushaj, P., Van Nieuwerburgh, F., & Lahousse, L. (2021). Pharmacogenetics in clinical practice : Current level of knowledge among Flemish physicians and pharmacists. *The Pharmacogenomics Journal*, 21(1), 78-84. <https://doi.org/10.1038/s41397-020-00180-x>
- Etienne, M. C., Lagrange, J. L., Dassonville, O., Fleming, R., Thyss, A., Renée, N., Schneider, M., Demard, F., & Milano, G. (1994). Population study of dihydropyrimidine dehydrogenase in cancer patients. *Journal of Clinical Oncology*, 12(11), 2248-2253. <https://doi.org/10.1200/JCO.1994.12.11.2248>
- Ezzeldin, H. H., Lee, A. M., Mattison, L. K., & Diasio, R. B. (2005). Methylation of the *DPYD* Promoter : An Alternative Mechanism for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency in Cancer Patients. *Clinical Cancer Research*, 11(24), 8699-8705. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-1520>
- Freedman, A. N., Klabunde, C. N., Wiant, K., Enewold, L., Gray, S. W., Filipski, K. K., Keating, N. L., Leonard, D. G. B., Lively, T., McNeel, T. S., Minasian, L., Potosky, A. L., Rivera, D. R., Schilsky, R. L., Schrag, D., Simonds, N. I., Sineshaw, H. M., Struewing, J. P., Willis, G., & de Moor, J. S. (2018). Use of Next-Generation Sequencing Tests to Guide Cancer Treatment : Results From a Nationally Representative Survey of Oncologists in the United States. *JCO Precision Oncology*, 2, 1-13.
<https://doi.org/10.1200/PO.18.00169>
- Fromer, M., & Purcell, S. M. (2014). Using XHMM Software to Detect Copy Number Variation in Whole-Exome Sequencing Data. *Current Protocols in Human Genetics*, 81(1), 7.23.1-7.23.21.
<https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0723s81>
- Gamelin, E., Boisdron-Celle, M., & Morel, A. (2007). [Detection of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency before treatment by fluoropyrimidines]. *Therapie*, 62(2), 99-103.
<https://doi.org/10.2515/therapie:2007023>

Ressources web

- Gasche, Y., Daali, Y., Fathi, M., Chiappe, A., Cottini, S., Dayer, P., & Desmeules, J. (2004). Codeine Intoxication Associated with Ultrarapid CYP2D6 Metabolism. *New England Journal of Medicine*, 351(27), 2827-2831. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa041888>
- Goetz, M. P., Sangkuhl, K., Guchelaar, H.-J., Schwab, M., Province, M., Whirl-Carrillo, M., Symmans, W. F., McLeod, H. L., Ratain, M. J., Zembutsu, H., Gaedigk, A., van Schaik, R. H., Ingle, J. N., Caudle, K. E., & Klein, T. E. (2018). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 and Tamoxifen Therapy. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 103(5), 770-777. <https://doi.org/10.1002/cpt.1007>
- Green, R. C., Berg, J. S., Grody, W. W., Kalia, S. S., Korf, B. R., Martin, C. L., McGuire, A. L., Nussbaum, R. L., O'Daniel, J. M., Ormond, K. E., Rehm, H. L., Watson, M. S., Williams, M. S., Biesecker, L. G., & American College of Medical Genetics and Genomics. (2013). ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 15(7), 565-574. <https://doi.org/10.1038/gim.2013.73>
- Groessler, E. J., Tally, S. R., Hillery, N., Maciel, A., & Garces, J. A. (2018). Cost-Effectiveness of a Pharmacogenetic Test to Guide Treatment for Major Depressive Disorder. *Journal of Managed Care & Specialty Pharmacy*, 24(8), 726-734. <https://doi.org/10.18553/jmcp.2018.24.8.726>
- Haga, S. B. (2021). Revisiting Secondary Information Related to Pharmacogenetic Testing. *Frontiers in Genetics*, 12, 741395. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.741395>
- Haga, S. B., & Moaddeb, J. (2014). Comparison of delivery strategies for pharmacogenetic testing services. *Pharmacogenetics and Genomics*, 24(3), 139-145. <https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000028>
- Haidar, C. E., Relling, M. V., & Hoffman, J. M. (2019). Preemptively Precise : Returning and Updating Pharmacogenetic Test Results to Realize the Benefits of Preemptive Testing. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 106(5), 942-944. <https://doi.org/10.1002/cpt.1613>
- Hehir-Kwa, J. Y., Claustres, M., Hastings, R. J., van Ravenswaaij-Arts, C., Christenhusz, G., Genuardi, M., Melegh, B., Cambon-Thomsen, A., Patsalis, P., Vermeesch, J., Cornel, M. C., Searle, B., Palotie, A.,

Ressources web

- Capoluongo, E., Peterlin, B., Estivill, X., & Robinson, P. N. (2015). Towards a European consensus for reporting incidental findings during clinical NGS testing. *European Journal of Human Genetics*, 23(12), 1601-1606. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2015.111>
- Henricks, L. M., Lunenburg, C. A. T. C., de Man, F. M., Meulendijks, D., Frederix, G. W. J., Kienhuis, E., Creemers, G.-J., Baars, A., Dezentjé, 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. *The Lancet Oncology*, 19(11), 1459-1467. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30686-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30686-7)
- Holzer, K., Culhane-Pera, K. A., Straka, R. J., Wen, Y. F., Lo, M., Lee, K., Xiong, T., Peng, K., Bishop, J., Thyagarajan, B., & Zierhut, H. A. (2021). Hmong participants' reactions to return of individual and community pharmacogenetic research results : « A positive light for our community ». *Journal of Community Genetics*, 12(1), 53-65. <https://doi.org/10.1007/s12687-020-00475-3>
- Houdayer, F., Putois, O., Babonneau, M. L., Chaumet, H., Joly, L., Juif, C., Michon, C. C., Staraci, S., Cretin, E., Delanoue, S., Charron, P., Chassagne, A., Edery, P., Gautier, E., Lapointe, A. S., Thauvin-Robinet, C., Sanlaville, D., Gargiulo, M., & Faivre, L. (2019). Secondary findings from next generation sequencing : Psychological and ethical issues. Family and patient perspectives. *European Journal of Medical Genetics*, 62(10), 103711. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2019.103711>
- Jarvis, J. P., Peter, A. P., Keogh, M., Baldasare, V., Beanland, G. M., Wilkerson, Z. T., Kradel, S., & Shaman, J. A. (2022). Real-World Impact of a Pharmacogenomics-Enriched Comprehensive Medication Management Program. *Journal of Personalized Medicine*, 12(3), 421. <https://doi.org/10.3390/jpm12030421>
- Johnson, J. A., Burkley, B. M., Langaee, T. Y., Clare-Salzler, M. J., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2012). Implementing Personalized Medicine : Development of a Cost-Effective Customized

Ressources web

Pharmacogenetics Genotyping Array. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 92(4), 437-439.

<https://doi.org/10.1038/clpt.2012.125>

Ka, S., Lee, S., Hong, J., Cho, Y., Sung, J., Kim, H.-N., Kim, H.-L., & Jung, J. (2017). HLAScan : Genotyping of the HLA region using next-generation sequencing data. *BMC Bioinformatics*, 18(1), 258.

<https://doi.org/10.1186/s12859-017-1671-3>

Kalia, S. S., Adelman, K., Bale, S. J., Chung, W. K., Eng, C., Evans, J. P., Herman, G. E., Hufnagel, S. B., Klein, T. E., Korf, B. R., McKelvey, K. D., Ormond, K. E., Richards, C. S., Vlangos, C. N., Watson, M., Martin, C. L., & Miller, D. T. (2017). Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0) : A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 19(2), 249-255. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.190>

Kapur, B. M., Lala, P. K., & Shaw, J. L. V. (2014). Pharmacogenetics of chronic pain management. *Clinical Biochemistry*, 47(13-14), 1169-1187. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.05.065>

Kimpton, J. E., Carey, I. M., Threapleton, C. J. D., Robinson, A., Harris, T., Cook, D. G., DeWilde, S., & Baker, E. H. (2019). Longitudinal exposure of English primary care patients to pharmacogenomic drugs : An analysis to inform design of pre-emptive pharmacogenomic testing. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 85(12), 2734-2746. <https://doi.org/10.1111/bcp.14100>

Klanderma, B. J., Koch, C., Machini, K., Parpattedar, S. S., Bandyadka, S., Lin, C.-F., Hynes, E., Lebo, M. S., & Amr, S. S. (2022). Automated Pharmacogenomic Reports for Clinical Genome Sequencing. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 24(3), 205-218. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2021.12.001>

Krebs, K., & Milani, L. (2019). Translating pharmacogenomics into clinical decisions : Do not let the perfect be the enemy of the good. *Human Genomics*, 13(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s40246-019-0229-z>

Laures, N., Konecki, C., Brugel, M., Giffard, A.-L., Abdelli, N., Botsen, D., Carlier, C., Gozalo, C., Feliu, C., Slimano, F., Djerada, Z., & Bouché, O. (2022). Impact of Guidelines Regarding Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) Deficiency Screening Using Uracil-Based Phenotyping on the Reduction of

Ressources web

Severe Side Effect of 5-Fluorouracil-Based Chemotherapy : A Propension Score Analysis.

Pharmaceutics, 14(10), 2119. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14102119>

Laviolle, B., Perche, O., Gueyffier, F., Bégué, É., Bilbault, P., Espérou, H., Gaillard-Bigot, F., Grenet, G., Guérin, J.-F., Guillot, C., Longerey, P.-H., Morere, J., Perrier, L., Sanlaville, D., Thevenon, J., & Varoqueaux, N. (2019). Apport de la génomique dans la médecine de demain, applications cliniques et enjeux.

Therapies, 74(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.therap.2018.11.011>

Lee, E. M. J., Xu, K., Mosbrook, E., Links, A., Guzman, J., Adams, D. R., Flynn, E., Valkanas, E., Toro, C., Tifft, C. J., Boerkoel, C. F., Gahl, W. A., & Sincan, M. (2016). Pharmacogenomic incidental findings in 308 families : The NIH Undiagnosed Diseases Program experience. *Genetics in Medicine*, 18(12), 1303-1307. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.47>

Lee, S., Wheeler, M. M., Patterson, K., McGee, S., Dalton, R., Woodahl, E. L., Gaedigk, A., Thummel, K. E., & Nickerson, D. A. (2019). Stargazer : A software tool for calling star alleles from next-generation sequencing data using CYP2D6 as a model. *Genetics in Medicine*, 21(2), 361-372. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0054-0>

Lelieveld, S. H., Spielmann, M., Mundlos, S., Veltman, J. A., & Gilissen, C. (2015). Comparison of Exome and Genome Sequencing Technologies for the Complete Capture of Protein-Coding Regions. *Human Mutation*, 36(8), 815-822. <https://doi.org/10.1002/humu.22813>

León-Cachón, R. B. R., Ascacio-Martínez, J. A., & Barrera-Saldaña, H. A. (2012). Individual response to drug therapy : Bases and study approaches. *Revista De Investigacion Clinica; Organo Del Hospital De Enfermedades De La Nutricion*, 64(4), 364-376.

Li, H., & Durbin, R. (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*, 25(14), 1754-1760. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324>

Loriot, M.-A., Ciccolini, J., Thomas, F., Barin-Le-Guellec, C., Royer, B., Milano, G., Picard, N., Becquemont, L., Verstuyft, C., Narjoz, C., Schmitt, A., Bobin-Dubigeon, C., Harle, A., Paci, A., Poinsignon, V., Quaranta, S., Evrard, A., Hennart, B., Broly, F., ... Etienne-Grimaldi, M.-C. (2018). Dépistage du déficit en

Ressources web

dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD) et sécurisation des chimiothérapies à base de fluoropyrimidines : Mise au point et recommandations nationales du GPCO-Uncancer et du RNPx. *Bulletin du Cancer*, 105(4), 397-407. <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2018.02.001>

Lunshof (Co-first author), J. E., Bobe (Co-first author), J., Aach, J., Angrist, M., V. Thakuria, J., Vorhaus, D. B., R. Hoehe (Co-last author), M., & Church (Co-last author), G. M. (2010). Personal genomes in progress : From the Human Genome Project to the Personal Genome Project. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 12(1), 47-60. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2010.12.1/jlunshof>

Mahgoub, A., Dring, L. G., Idle, J. R., Lancaster, R., & Smith, R. L. (1977). POLYMORPHIC HYDROXYLATION OF DEBRISOQUINE IN MAN. *The Lancet*, 310(8038), 584-586. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(77\)91430-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(77)91430-1)

Majewski, J., Schwartzentruber, J., Lalonde, E., Montpetit, A., & Jabado, N. (2011). What can exome sequencing do for you? *Journal of Medical Genetics*, 48(9), 580-589. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2011-100223>

Mansour-Hendili, L., Aissat, A., Badaoui, B., Sakka, M., Gameiro, C., Ortonne, V., Wagner-Ballon, O., Pissard, S., Picard, V., Ghazal, K., Bahuau, M., Guitton, C., Mansour, Z., Duplan, M., Petit, A., Costedoat-Chalumeau, N., Michel, M., Bartolucci, P., Moutereau, S., ... Galactéros, F. (2020). Exome sequencing for diagnosis of congenital hemolytic anemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 15(1), 180. <https://doi.org/10.1186/s13023-020-01425-5>

Meulendijks, D., Henricks, L. M., Jacobs, B. A. W., Aliev, A., Deenen, M. J., de Vries, N., Rosing, H., van Werkhoven, E., de Boer, A., Beijnen, J. H., Mandigers, C. M. P. W., Soesan, M., Cats, A., & Schellens, J. H. M. (2017). Pretreatment serum uracil concentration as a predictor of severe and fatal fluoropyrimidine-associated toxicity. *British Journal of Cancer*, 116(11), 1415-1424. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.94>

Miller, D. T., Lee, K., Chung, W. K., Gordon, A. S., Herman, G. E., Klein, T. E., Stewart, D. R., Amendola, L. M., Adelman, K., Bale, S. J., Gollob, M. H., Harrison, S. M., Hershberger, R. E., McKelvey, K., Richards, C.

Ressources web

S., Vlangos, C. N., Watson, M. S., & Martin, C. L. (2021). ACMG SF v3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing : A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine*, 23(8), 1381-1390.

<https://doi.org/10.1038/s41436-021-01172-3>

Mills, R., & Haga, S. B. (2013). Clinical delivery of pharmacogenetic testing services : A proposed partnership between genetic counselors and pharmacists. *Pharmacogenomics*, 14(8), 957-968.

<https://doi.org/10.2217/pgs.13.76>

Morris, S. A., Alsaidi, A. T., Verbyla, A., Cruz, A., Macfarlane, C., Bauer, J., & Patel, J. N. (2022). Cost Effectiveness of Pharmacogenetic Testing for Drugs with Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines : A Systematic Review. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 112(6), 1318-1328. <https://doi.org/10.1002/cpt.2754>

Moyer, A. M., Rohrer Vitek, C. R., Giri, J., & Caraballo, P. J. (2017). Challenges in Ordering and Interpreting Pharmacogenomic Tests in Clinical Practice. *The American Journal of Medicine*, 130(12), 1342-1344. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2017.07.012>

Nambot, S., Thevenon, J., Kuentz, P., Duffourd, Y., Tisserant, E., Bruel, A.-L., Mosca-Boidron, A.-L., Masurel-Paulet, A., Lehalle, D., Jean-Marçais, N., Lefebvre, M., Vabres, P., El Chehadeh-Djebbar, S., Philippe, C., Tran Mau-Them, F., St-Onge, J., Jouan, T., Chevarin, M., Poé, C., ... Thauvin-Robinet, C. (2018). Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of rare disorders with congenital anomalies and/or intellectual disability : Substantial interest of prospective annual reanalysis. *Genetics in Medicine*, 20(6), 645-654. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.162>

Neven, P., Jongen, L., Lintermans, A., Van Asten, K., Blomme, C., Lambrechts, D., Poppe, A., Wildiers, H., Dieudonné, A.-S., Brouckaert, O., Decloedt, J., Berteloot, P., Verhoeven, D., Joerger, M., Vuylsteke, P., Wynendaele, W., Casteels, M., Van Huffel, S., Lybaert, W., ... Guchelaar, H.-J. (2018). Tamoxifen Metabolism and Efficacy in Breast Cancer : A Prospective Multicenter Trial. *Clinical Cancer Research*, 24(10), 2312-2318. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-3028>

Ressources web

- Niedrig, D. F., Hoppe, L., Mächler, S., Russmann, H., & Russmann, S. (2016). Benzodiazepine Use During Hospitalization : Automated Identification of Potential Medication Errors and Systematic Assessment of Preventable Adverse Events. *PLOS ONE*, *11*(10), e0163224.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163224>
- Niedrig, D. F., Rahmany, A., Heib, K., Hatz, K.-D., Ludin, K., Burden, A. M., Béchir, M., Serra, A., & Russmann, S. (2021). Clinical Relevance of a 16-Gene Pharmacogenetic Panel Test for Medication Management in a Cohort of 135 Patients. *Journal of Clinical Medicine*, *10*(15), 3200.
<https://doi.org/10.3390/jcm10153200>
- Nofziger, C., Turner, A. J., Sangkuhl, K., Whirl-Carrillo, M., Agúndez, J. A. G., Black, J. L., Dunnenberger, H. M., Ruano, G., Kennedy, M. A., Phillips, M. S., Hachad, H., Klein, T. E., & Gaedigk, A. (2020). PharmVar GeneFocus : *CYP2D6*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *107*(1), 154-170.
<https://doi.org/10.1002/cpt.1643>
- Overby, C. L., Erwin, A. L., Abul-Husn, N. S., Ellis, S. B., Scott, S. A., Obeng, A. O., Kannry, J. L., Hripcsak, G., Bottinger, E. P., & Gottesman, O. (2014). Physician Attitudes toward Adopting Genome-Guided Prescribing through Clinical Decision Support. *Journal of Personalized Medicine*, *4*(1), 35-49.
<https://doi.org/10.3390/jpm4010035>
- Ozkaynakci, A., Gulcebi, M. I., Ergeç, D., Ulucan, K., Uzan, M., Ozkara, C., Guney, I., & Onat, F. Y. (2015). The effect of polymorphic metabolism enzymes on serum phenytoin level. *Neurological Sciences: Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, *36*(3), 397-401. <https://doi.org/10.1007/s10072-014-1961-8>
- Pellicer, M., García-González, X., García, M. I., Robles, L., Grávalos, C., García-Alfonso, P., Pachón, V., Longo, F., Martínez, V., Blanco, C., Iglesias, I., Sanjurjo, M., & López-Fernández, L. A. (2017). Identification of new SNPs associated with severe toxicity to capecitabine. *Pharmacological Research*, *120*, 133-137.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.03.021>

Ressources web

- Pink, J., Pirmohamed, M., Lane, S., & Hughes, D. A. (2014). Cost-Effectiveness of Pharmacogenetics-Guided Warfarin Therapy vs. Alternative Anticoagulation in Atrial Fibrillation. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 95(2), 199-207. <https://doi.org/10.1038/clpt.2013.190>
- Pirmohamed, M. (2023). Pharmacogenomics : Current status and future perspectives. *Nature Reviews Genetics*. <https://doi.org/10.1038/s41576-022-00572-8>
- Rahawi, S., Naik, H., Blake, K. V., Owusu Obeng, A., Wasserman, R. M., Seki, Y., Funanage, V. L., Oishi, K., & Scott, S. A. (2020). Knowledge and attitudes on pharmacogenetics among pediatricians. *Journal of Human Genetics*, 65(5), 437-444. <https://doi.org/10.1038/s10038-020-0723-0>
- Rodler, S., Jung, A., Greif, P. A., Rühlmann, K., Apfelbeck, M., Tamalunas, A., Kretschmer, A., Schulz, G. B., Szabados, B., Stief, C., Heinemann, V., Westphalen, C. B., & Casuscelli, J. (2021). Routine application of next-generation sequencing testing in uro-oncology—Are we ready for the next step of personalised medicine? *European Journal of Cancer*, 146, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2020.12.024>
- Sanchez-Spitman, A., Dezentjé, V., Swen, J., Moes, D. J. A. R., Böhringer, S., Batman, E., van Druten, E., Smorenburg, C., van Bochove, A., Zeillemaker, A., Jongen, L., Los, M., Neven, P., Gelderblom, H., & Guchelaar, H.-J. (2019). Tamoxifen Pharmacogenetics and Metabolism : Results From the Prospective CYPTAM Study. *Journal of Clinical Oncology*, 37(8), 636-646. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.00307>
- Shimazawa, R., & Ikeda, M. (2018). Pharmacogenomic biomarkers : Interpretation of information included in United States and Japanese drug labels. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 43(4), 500-506. <https://doi.org/10.1111/jcpt.12692>
- Sim, S. C., & Ingelman-Sundberg, M. (2010). The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature website : A peer-reviewed database of CYP variants and their associated effects. *Human Genomics*, 4(4), 278. <https://doi.org/10.1186/1479-7364-4-4-278>

Ressources web

- Smith, D. M., Peshkin, B. N., Springfield, T. B., Brown, R. P., Hwang, E., Kmiecik, S., Shapiro, R., Eldadah, Z., Lundergan, C., McAlduff, J., Levin, B., & Swain, S. M. (2020). Pharmacogenetics in Practice : Estimating the Clinical Actionability of Pharmacogenetic Testing in Perioperative and Ambulatory Settings. *Clinical and Translational Science*, *13*(3), 618-627. <https://doi.org/10.1111/cts.12748>
- Smith, D. M., Weitzel, K. W., Elsey, A. R., Langae, T., Gong, Y., Wake, D. T., Duong, B. Q., Hagen, M., Harle, C. A., Mercado, E., Nagoshi, Y., Newsom, K., Wright, A., Rosenberg, E. I., Starostik, P., Clare-Salzler, M. J., Schmidt, S. O., Fillingim, R. B., Johnson, J. A., & Cavallari, L. H. (2019). CYP2D6-guided opioid therapy improves pain control in CYP2D6 intermediate and poor metabolizers : A pragmatic clinical trial. *Genetics in Medicine*, *21*(8), 1842-1850. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0431-8>
- Stage, T. B., Brøsen, K., & Christensen, M. M. H. (2015). A Comprehensive Review of Drug–Drug Interactions with Metformin. *Clinical Pharmacokinetics*, *54*(8), 811-824. <https://doi.org/10.1007/s40262-015-0270-6>
- Stanek, E. J., Sanders, C. L., Taber, K. A. J., Khalid, M., Patel, A., Verbrugge, R. R., Agatep, B. C., Aubert, R. E., Epstein, R. S., & Frueh, F. W. (2012). Adoption of Pharmacogenomic Testing by US Physicians : Results of a Nationwide Survey. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *91*(3), 450-458. <https://doi.org/10.1038/clpt.2011.306>
- Swen, J. J., van der Wouden, C. H., Manson, L. E., Abdullah-Koolmees, H., Blagec, K., Blagus, T., Böhringer, S., Cambon-Thomsen, A., Cecchin, E., Cheung, K.-C., Deneer, V. H., Dupui, M., Ingelman-Sundberg, M., Jonsson, S., Joefield-Roka, C., Just, K. S., Karlsson, M. O., Konta, L., Koopmann, R., ... Rajasingam, A. (2023). A 12-gene pharmacogenetic panel to prevent adverse drug reactions : An open-label, multicentre, controlled, cluster-randomised crossover implementation study. *The Lancet*, *401*(10374), 347-356. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01841-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01841-4)
- Tattini, L., D'Aurizio, R., & Magi, A. (2015). Detection of Genomic Structural Variants from Next-Generation Sequencing Data. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *3*. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00092>

Ressources web

- Taylor, C., Crosby, I., Yip, V., Maguire, P., Pirmohamed, M., & Turner, R. M. (2020). A Review of the Important Role of CYP2D6 in Pharmacogenomics. *Genes*, 11(11), 1295. <https://doi.org/10.3390/genes11111295>
- Thauvin-Robinet, C., Thevenon, J., Nambot, S., Delanne, J., Kuentz, P., Bruel, A.-L., Chassagne, A., Cretin, E., Pelissier, A., Peyron, C., Gautier, E., Lehalle, D., Jean-Marçais, N., Callier, P., Mosca-Boidron, A.-L., Vitobello, A., Sorlin, A., Tran Mau-Them, F., Philippe, C., ... Faivre, L. (2019). Secondary actionable findings identified by exome sequencing : Expected impact on the organisation of care from the study of 700 consecutive tests. *European Journal of Human Genetics*, 27(8), 1197-1214. <https://doi.org/10.1038/s41431-019-0384-7>
- Thomas, F., Hennebelle, I., Delmas, C., Lochon, I., Dhelens, C., Garnier Tixidre, C., Bonadona, A., Penel, N., Goncalves, A., Delord, J., Toulas, C., & Chatelut, E. (2016). Genotyping of a family with a novel deleterious *DPYD* mutation supports the pretherapeutic screening of DPD deficiency with dihydrouracil/uracil ratio. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 99(2), 235-242. <https://doi.org/10.1002/cpt.210>
- Toffoli, G., Cecchin, E., Corona, G., Russo, A., Buonadonna, A., D'Andrea, M., Pasetto, L. M., Pessa, S., Errante, D., De Pangher, V., Giusto, M., Medici, M., Gaion, F., Sandri, P., Galligioni, E., Bonura, S., Boccalon, M., Biason, P., & Frustaci, S. (2006). The role of UGT1A1*28 polymorphism in the pharmacodynamics and pharmacokinetics of irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 24(19), 3061-3068. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.05.5400>
- van der Wouden, C., Cambon-Thomsen, A., Cecchin, E., Cheung, K., Dávila-Fajardo, C., Deneer, V., Dolžan, V., Ingelman-Sundberg, M., Jönsson, S., Karlsson, M., Kriek, M., Mitropoulou, C., Patrinos, G., Pirmohamed, M., Samwald, M., Schaeffeler, E., Schwab, M., Steinberger, D., Stingl, J., ... on behalf of the Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium. (2017). Implementing Pharmacogenomics in Europe : Design and Implementation Strategy of the Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 101(3), 341-358. <https://doi.org/10.1002/cpt.602>

Ressources web

- van der Wouden, C. H., van Rhenen, M. H., Jama, W. O. M., Ingelman-Sundberg, M., Lauschke, V. M., Konta, L., Schwab, M., Swen, J. J., & Guchelaar, H.-J. (2019). Development of the PGx-Passport : A Panel of Actionable Germline Genetic Variants for Pre-Emptive Pharmacogenetic Testing. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 106(4), 866-873. <https://doi.org/10.1002/cpt.1489>
- Van Kuilenburg, A. B. P., Van Lenthe, H., Tromp, A., Veltman, P. C. J., & Van Gennip, A. H. (2000). Pitfalls in the Diagnosis of Patients with a Partial Dihydropyrimidine Dehydrogenase Deficiency. *Clinical Chemistry*, 46(1), 9-17. <https://doi.org/10.1093/clinchem/46.1.9>
- van Gelder, T., Hesselink, D. A., van Hest, R. M., Mathôt, R. A. A., & van Schaik, R. (2004). Pharmacogenetics in immunosuppressive therapy : The best thing since TDM? *Therapeutic Drug Monitoring*, 26(4), 343-346. <https://doi.org/10.1097/00007691-200408000-00001>
- van Staveren, M. C., van Kuilenburg, A. B. P., Guchelaar, H.-J., Meijer, J., Punt, C. J. A., de Jong, R. S., Gelderblom, H., & Maring, J. G. (2016). Evaluation of an oral uracil loading test to identify DPD-deficient patients using a limited sampling strategy : Uracil loading dose to detect DPD deficiency. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 81(3), 553-561. <https://doi.org/10.1111/bcp.12821>
- Verbelen, M., Weale, M. E., & Lewis, C. M. (2017). Cost-effectiveness of pharmacogenetic-guided treatment : Are we there yet? *The Pharmacogenomics Journal*, 17(5), 395-402. <https://doi.org/10.1038/tpj.2017.21>
- Verhoef, T. I., Redekop, W. K., Van Schie, R. M., Bayat, S., Daly, A. K., Geitona, M., Haschke-Becher, E., Hughes, D. A., Kamali, F., Levin, L.-Å., Manolopoulos, V. G., Pirmohamed, M., Siebert, U., Stingl, J. C., Wadelius, M., De Boer, A., & Maitland-van Der Zee, A.-H. (2012). Cost-effectiveness of pharmacogenetics in anticoagulation : International differences in healthcare systems and costs. *Pharmacogenomics*, 13(12), 1405-1417. <https://doi.org/10.2217/pgs.12.124>
- Vreken, P., Kuilenburg, A. B. P. V., Meinsma, R., & van Gennip, A. H. (1997). Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency : Identification and expression of missense mutations C29R, R886H and R235W. *Human Genetics*, 101(3), 333-338. <https://doi.org/10.1007/s004390050637>

Ressources web

Wang, H., Qian, Y., Lu, Y., Qin, Q., Lu, G., Cheng, G., Zhang, P., Yang, L., Wu, B., & Zhou, W. (2020). Clinical utility of 24-h rapid trio-exome sequencing for critically ill infants. *Npj Genomic Medicine*, 5(1), 20. <https://doi.org/10.1038/s41525-020-0129-0>

Zevin, S., & Benowitz, N. L. (1999). Drug Interactions with Tobacco Smoking : An Update. *Clinical Pharmacokinetics*, 36(6), 425-438. <https://doi.org/10.2165/00003088-199936060-00004>

Zwisler, S. T., Enggaard, T. P., Noehr-Jensen, L., Pedersen, R. S., Mikkelsen, S., Nielsen, F., Brosen, K., & Sindrup, S. H. (2009). The Hypoalgesic Effect of Oxycodone in Human Experimental Pain Models in Relation to the CYP2D6 Oxidation Polymorphism. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 104(4), 335-344. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2009.00378.x>

Communications

Articles faisant l'objet de cette thèse

Verdez, S., Thomas, Q., Garret, P., Verstuyft, C., Tisserant, E., Vitobello, A., ... & Duffourd, Y. (2022). Exome sequencing allows detection of relevant pharmacogenetic variants in epileptic patients. *The Pharmacogenomics Journal*, 22(5-6), 258-263. (IF = 3.2)

Verdez, S., Albuisson, J., Duffourd, Y., Boidot, R., Reda, M., Thauvin-Robinet, C., ... & Picard, N. (2022). Detection of relevant pharmacogenetic information through exome sequencing in oncology. *Pharmacogenomics*, 23(14), 759-770. (IF = 2.1)

Verdez, S., Bardou, M., Duffourd, Y., Luu, M., Thauvin-Robinet, C., Faivre, L., & Picard, N. (2023). Experience and expectations of pharmacogenetic tests in France. *Therapies*. (IF = 3.3)

Articles annexes

Verdez, S., Chevarin, M., Couturier, V., Leleu, D., & Thauvin-Robinet, C. (2022). Detection of the novel allele, HLA-A* 32: 165, in a French individual by next-generation sequencing. *HLA*. (IF = 9.2)

Colin, E., Duffourd, Y., Chevarin, M., Tisserant, E., **Verdez, S.**, Paccaud, J., ... & Vitobello, A. (2023). Stepwise use of genomics and transcriptomics technologies increases diagnostic yield in Mendelian disorders. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1021920. (IF = 6.3)

Garret, P., Chevarin, M., Vitobello, A., **Verdez, S.**, Fournier, C., Verloes, A., ... & Duffourd, Y. (2023). A second look at exome sequencing data: detecting mobile elements insertion in a rare disease cohort. *European Journal of Human Genetics*, 31(7), 761-768. (IF = 5.3)

Tisserant, E., Vitobello, A., Callegarin, D., **Verdez, S.**, Bruel, A. L., Aho Glele, L. S., ... & Callier, P. (2022). Copy number variants calling from WES data through eXome hidden Markov model (XHMM) identifies additional 2.5% pathogenic genomic imbalances smaller than 30 kb undetected by array-CGH. *Annals of Human Genetics*, 86(4), 171-180. (IF = 1.9)

Ressources web

Communications orales

S. Verdez, P. Garret, E. Tisserant, A. Vitobello, F. Tran Mau-Them, C. Philippe, M. Bardou, M. Luu, J. Albuissou, C. Verstuyft, P. Callier, C. Thauvin-Robinet, L. Faivre, Y. Duffourd. **L'apport du séquençage d'exome dans la découverte de variations pharmacogénétiques en lien avec les traitements de l'épilepsie**. Assises de génétique humaine et médicale – Tours – janvier 2020

Simon Verdez, Juliette Albuissou, Yannis Duffourd, Romain Boidot, Manon Reda, Christel Thauvin-Robinet, Jean-David Fumet, Sylvain Ladoire, Sophie Nambot, Maxime Luu, Callier Patrick, Laurence Faivre, Francois Ghiringhelli, Nicolas Picard. **Exome sequencing in oncology: a way to obtain relevant pharmacogenetic information**. International Congress of Therapeutic Drug monitoring & Clinical Toxicology – Rome, Italy – septembre 2021

Posters

S. Verdez, P. Garret, E. Tisserant, A. Vitobello, F. Tran Mau-Them, C. Philippe, M. Bardou, M. Luu, J. Albuissou, C. Verstuyft, P. Callier, C. Thauvin-Robinet, L. Faivre, Y. Duffourd. **Exome sequencing allows detection of relevant pharmacogenetics variants in epileptic patients** European Society Human Genetic – Gothenburg, Sweden – juin 2019

S. Verdez, P. Garret, E. Tisserant, A. Vitobello, F. Tran Mau-Them, C. Philippe, M. Bardou, M. Luu, J. Albuissou, C. Verstuyft, P. Callier, C. Thauvin-Robinet, L. Faivre, Y. Duffourd. **L'apport du séquençage d'exome dans la découverte de variations pharmacogénétiques en lien avec les traitements de l'épilepsie**. Journées Ouvertes de Biologie Informatique Mathématique – Montpellier – juin 2020

S. Verdez, P. Garret, E. Tisserant, A. Vitobello, F. Tran Mau-Them, C. Philippe, M. Bardou, M. Luu, J. Albuissou, C. Verstuyft, P. Callier, C. Thauvin-Robinet, L. Faivre, Y. Duffourd. **Exome sequencing allows detection of relevant pharmacogenetics variants in epileptic patients** Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique – Gothenburg, Sweden – juin 2021

Simon Verdez, Juliette Albuissou, Yannis Duffourd, Romain Boidot, Manon Reda, Christel Thauvin-Robinet, Jean-David Fumet, Sylvain Ladoire, Sophie Nambot, Maxime Luu, Callier Patrick, Laurence Faivre, Francois Ghiringhelli, Nicolas Picard. **Utilisation du séquençage d'exome pour la détection de variants pharmacogénétiques dans le cadre de l'oncologie**. Assises de génétique humaine et médicale – Rennes – janvier 2022

Simon Verdez, Yannis Duffourd, Maxime Luu, Christine Binquet, Christine Peyron, Antonin Schmitt, Christel Thauvin-Robinet, Nicolas Picard, Laurence Faivre. **Experience and expectations of pharmacogenetic tests in France**. American Society Human Genetic – Los Angeles, USA – octobre 2021

Simon Verdez, Yannis Duffourd, Maxime Luu, Christine Binquet, Christine Peyron, Antonin Schmitt, Christel Thauvin-Robinet, Nicolas Picard, Laurence Faivre. **Expérience et espérances des tests pharmacogénétiques sur le territoire Français**. Assises de génétique humaine et médicale – Rennes – janvier 2022

Ressources web

Resources web

<https://www.internationalgenome.org/data-portal/sample>

<https://www.pharmgkb.org/>

<https://www.ema.europa.eu>

<https://www.fda.gov/>

<https://www.genomicsengland.co.uk/100000-genomes-project-protocol>

<http://cancer.sanger.ac.uk/census>

<https://cpicpgx.org/>