

Komplexní farmakogenetické sledování pacientů léčených protinádorovou chemoterapií s 5-fluorouracilem zaměřené na deficienci dihydropyrimidin dehydrogenázy.

Demlová R.¹, Bednaříková M.¹, Riedlová P.², Fišer J.², Meijer J.³, Kuilenburg A.³, Valík D.¹

1) Masarykův onkologický ústav, Brno

2) Onkologické centrum J. G. Mendela, Nový Jičín

3) Academic Medical Center Amsterdam, The Netherlands

Úvod

Dihydropyrimidin dehydrogenasa (DHPD) je iniciálním a „rate-limiting“ enzymem odpovědným za katabolismus protinádorového léku 5-fluorouracilu, zapojeným v třístupňové katabolické dráze uracilu a thyminu vedoucí ke tvorbě beta-alaninu a beta-aminoisomáselné kyseliny. Významná jaterní a renální eliminace 5-fluorouracilu způsobuje, že pouze minimální množství podané látky je ve vlastním tumoru k dispozici pro biotransformaci na fluoropyrimidinnukleotidy, jelikož 10-20% látky se vyloučí v nezměněné podobě močí a cca 80% podané látky je metabolizováno převážně v játrech na 5-fluorodihydrouracil. Klinické odezvy na lék bývají poměrně nízké (cca 20-40%), zčásti z důvodů úzkého terapeutického rozpětí a nelineární kinetiky léčiva. To vede k tomu, že je obtížné dosáhnout klinické odezvy bez navození významné systémové toxicity. V populaci vykazuje aktivita DPD výraznou variabilitu (myšlena jaterní aktivita enzymu, tj. ta, která je dominantně odpovědná za katabolismus). Přibližně 3-5% má aktivitu tohoto enzymu redukovanou. Snížená aktivita DPD resultuje v závažnou gastrointestinální, hematologickou a neurologickou toxicitu u pacientů léčených 5-fluorouracilem. V literatuře je doposud popsáno asi 20 případů těžkých projevů toxicity 5-FU daných sníženou aktivitou DPD. Léčení těchto pacientů je nákladné a navíc, takové nežádoucí reakce snižují compliance pacienta s další chemoterapeutickou léčbou. Farmakokineticky se snížená aktivita DPD projevuje zvýšením eliminačního poločasů z 8 až na 160 min a systémová clearance léčiva klesne na hodnoty 70 ml/min/m² (normální hodnota je 594 198 ml/min/m²). Molekulární studie ukázaly, že incidence mutace G>A v exonu 14 vedoucí k přeskočení 165 bp exonu je 1 : 270, z čehož plyne, že k vysvětlení molekulární podstaty DPD deficeience bude třeba identifikovat další mutace. Jelikož řada z pozorovaných změn má charakter tzv. SNP (single nucleotide polymorphism), které se přímo neodrážejí ve snížené aktivitě DPD, nelze zatím nahradit fenotypické sledování aktivity DPD jednodušším postupem molekulární genetiky.

Cíl studie

Prospektivní zhodnocení farmakogenetiky determinované interindividuální variability klinických projevů toxicity a dosažených léčebných výsledků u pacientů léčených 5-fluorouracilem. Cílem je vyhodnotit a případně korelovat výsledky získané molekulární analýzou vybraných mutací DPD, farmakokinetickým monitorováním 5-FU a vyšetřením renální exkrece thyminu. Souběžně s laboratorní částí jsou prospektivně zaznamenávány a vyhodnocovány klinické aspekty léčby, tedy její efektivita a nežádoucí účinky.

Metodika

1. molekulárně-genetické vyšetření genu pro DHPD pomocí jeho sekvenace: se provádí z genomové DNA izolované z leukocytů periferní krve před zahájením terapie
2. stanovení základních farmakokinetických parametrů 5-FU: primární sledovanou veličinou je plocha pod křivkou (AUC) vypočítaná z naměřených plazmatických hladin 5-FU a jeho metabolitu 5-DHFU u jednotlivých pacientů. Odběry jsou provedeny v předem stanovených časových intervalech v závislosti na zvoleném chemoterapeutickém režimu. Plasma-

MONITOROVÁNÍ A PREDIKCE V ONKOLOGII

tické koncentrace 5-FU a 5-DHFU se stanovují HPLC. Vlastní farmakokinetický výpočet je prováděn pomocí software MW/PHARM verze 3.02.

3. vyšetření renální exkrece thyminu: Biochemický fenotyp poruchy DHPD tkví ve zvýšené exkreci thyminu, uracilu a 5-hydroxymethyluracilu. Vyšetření renální exkrece thyminu se provádí v moči odebrané před zahájením terapie metodou GCMS.

Výběr pacientů

Do studie jsou zařazováni pacienti léčení chemoterapeutickým režimem obsahujícím 5-FU, a to buď v kontinuálním nebo bolusovém podání.

Obě skupiny budou hodnoceny samostatně:

- režim s bolusovým podáním 5-FU, modifikace Mayo: leukovorin 20 mg/m² i.v. bolus D1-5, 5-FU 425 mg/m² i.v. bolus D1-5, interval 28 dnů
- režim s kontinuálním podáváním 5-FU v režimu dle deGramonta: leukovorin 200 mg/m², inf./2hod, 5-FU 400 mg/m² i.v. bolus, 5-FU 600 mg/m² i.v. inf./22 hod, vše den 1,2, interval 14 dní

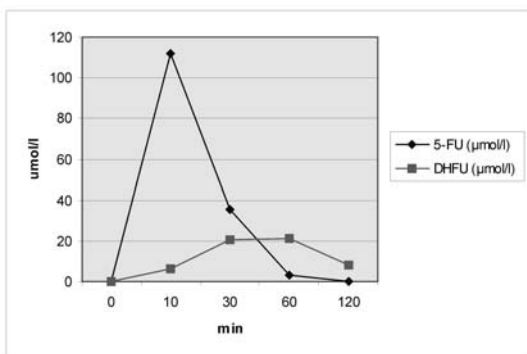
Průběžné výsledky

V období 12/2004 – 9/2005 bylo do studie zařazeno **68 pacientů**

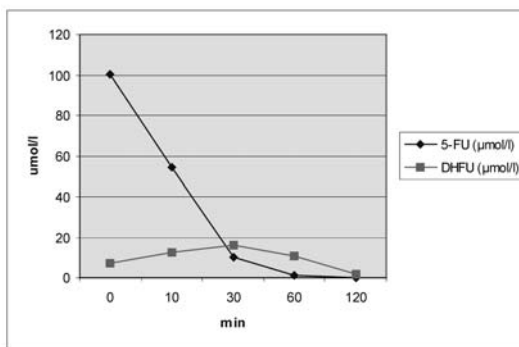
klinická data k dispozici u	n = 68
z toho ≥60 let	n = 29
farmakokinetické odběry	n = 68
z toho doposud zanalyzováno	n = 48
odběry k analýze DNA	n = 67
sekvenace provedena	n = 25
odběry ke stanovení exkrece thyminu v moči	n = 67

Průběžné závěry

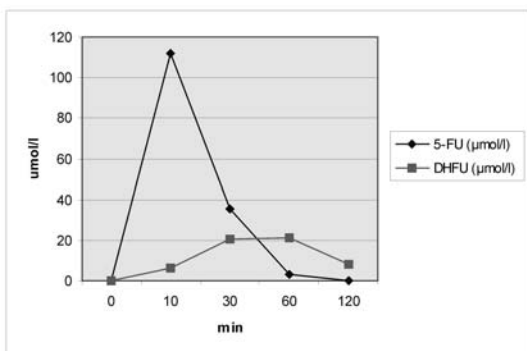
Celý projekt je náročný především na organizaci, zejména správné načasování farmakokinetických odběrů, na jejichž hodnotách závisí následně kalkulované farmakokinetické parametry (AUC, C_{max} atd.):



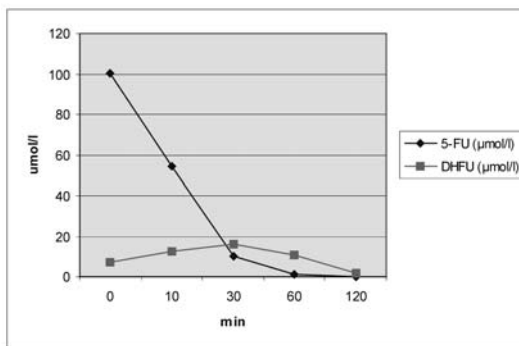
a) Mayo režim, správné časování odběrů:



b) Mayo režim, chybné časování odběrů:



c) DeGramont, správné časování odběrů:



d) DeGramont, chybné časování odběrů:

MONITOROVÁNÍ A PREDIKCE V ONKOLOGII

Průběžné závěry

Při analýze farmakokinetických parametrů jeví poměr hodnot AUC 5-FU/DHFU značnou korelaci se skutečnou tolerancí léčby.

U režimu s bolusovým 5-FU jsou hladiny AUC 5-FU i 5,6-DHFU překvapivě výrazně vyšší než u kontinuálního podání

Analýza DNA sekvenací je prováděna selektivně, výběr pacientů se provádí na základě poměrů hodnot AUC 5-FU/DHFU v korelaci s klinickými projevy výraznější toxicity. Doposud jsme nezaznamenali záchyt parciálního deficitu DHPD u pacientů.