

PROJEKT „DPD ONLINE“ : MOŽNOST PREDIKCE TOXICITY 5-FLUOROURACILU A JEHO DERIVÁTŮ

PROJECT „DPD ONLINE“ : THE POSSIBILITY OF TOXICITY PREDICTION OF 5-FLUOROURACIL AND ITS DERIVATES

NOVOTNÝ J.¹, KLEIBL Z.², SÝKORA V.³, ZIMOVJANOVÁ M.¹, PETRUŽELKA L.¹

¹ ONKOLOGICKÁ KLINIKA VFN A 1. LF UK, U NEMOCNICE 2, PRAHA 2

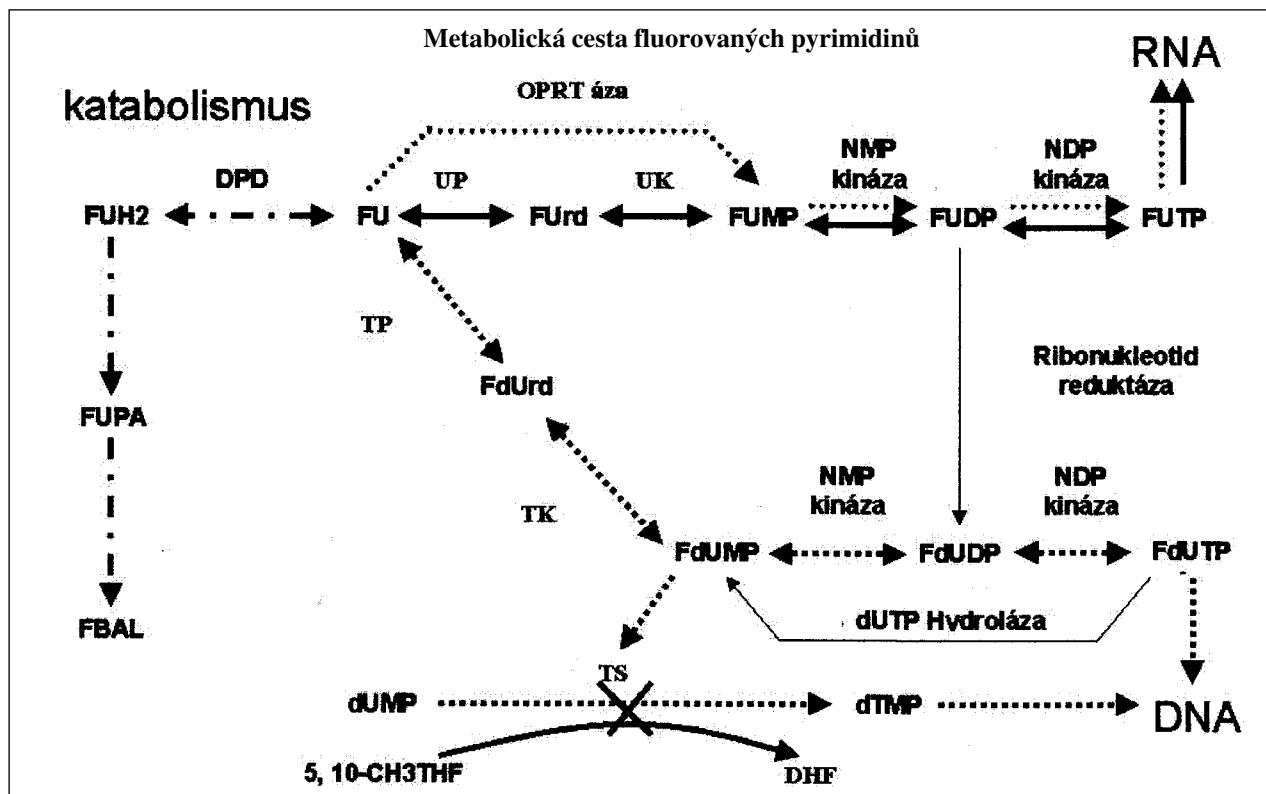
² ÚSTAV BIOCHEMIE A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE 1. LF UK, U NEMOCNICE 5, PRAHA 2

³ ÚSTAV PATOLOGICKÉ FYZIOLOGIE 1. LF UK, U NEMOCNICE 5, PRAHA 2

I přesto, že od prvního klinického použití 5-fluorouracilu uběhlo již mnoho let, stále patří tento lék mezi nejčastěji ordinovaná cytostatika u mnoha nádorových typů. Bez tohoto fluoropyrimidinu si nelze představit standardní terapii kolorektálního karcinomu, karcinomu žaludku, slinivky břišní, karcinomu anu, karcinomu prsu nebo nádorů hlavy a krku a jícnu. Mechanismus protinádorového působení 5-fluorouracilu je komplexní (schéma 1.). Za nejdůležitější lze označit zpoma-

lení syntézy DNA. To je vyvoláno nitrobněčnou deplecí thymidin trifosfátu v důsledku inhibice enzymu thymidylátsyntázy (TS). Také syntéza RNA je 5-fluorouracilem nepříznivě ovlivněna, neboť v důsledku metabolizace léku dochází k zařazování 5-fluorouridin trifosfátu do nově syntetizované mRNA, což vede ke vzniku mnoha chyb při následné translaci¹⁾. Odbourávání 5-fluorouracilu na neaktivní metabolity je zajištěno enzymem dihydropyrimidin dehydrogenázou (DPD). Ten-

Schéma 1: Mechanismus aktivace, detoxikace a protinádorového účinku 5-fluorouracilu. DPD (dihydropyrimidin dehydrogenáza), FU (Fluorouracil), Furd (Fluorouridin), FUMP (Fluorouridin monofosfát), FUDP (Fluorouridin difosfát), FUTP (Fluorouridin trifosfát), NMP (nukleotid monofosfát kináza), NDP (nukleotid difosfát kináza), TP (thymidin fosforyláza), FdUrd (Fluorodeoxyuridin), TK (thymidinkináza), TS (thymidylát syntáza), FdUMP (Fluorodeoxyuridin difosfát), FdUTP (Fluorodeoxyuridin trifosfát), dUMP (deoxyuridin monofosfát), dTMP (deoxythymidin fosfát), DHF (dihydrofolát).



Tabulka 1.: Typy mutací, které způsobují snížení enzymatické aktivity DPD.

Charakteristika mutace	
delece	295-298delTCAT, 1897delC
sestřihová mutace	IVS14+1GA
záměny	G62A, T85C, A496G, C703T, G1003C(T), G1156T, G2657A, G2983T

Tabulka 2.: Četnost výskytu toxicity třetího a čtvrtého stupně dle NCIC CTC popisovaná v jednotlivých studiích při léčbě režimy založenými na 5FU nebo jeho derivátech.

Diagnóza a režim	podíl nemocných s toxicitou 3. a 4. stupně			% toxických úmrtí při chemoterapii	odkaz
	mukositis	neutropenie / leukopenie	průměr		
nádory hlavy a krku cisplatina, fluorouracil, docetaxel	30%	95%	9%	neudáno	8
nádory jícnu cisplatina, fluorouracil ¹⁾	25%	29%	neudáno	2%	9
nádory žaludku FUFA Mayo ²⁾		54% ³⁾	33% ⁴⁾	1%	10
nádory tračnicku metanalýza: adj. CHT FUFA <= 70 let metaanalýza: adj. CHT FUFA > 70 let	11% 15%	4% 8%	15% 15%	neudáno neudáno	11 11
FUFA De Gramont	1,5%	5,3%	5,3%	0%	12
FOLFOX4	5,8%	41,7%	11,9%	0%	12
FOLFIRI	4,1%	46,2%	13,1%	0,3%	13
karcinom prsu CMF Bonadonna	2%	0%	0%		14
FAC	1%	65%	0%	0,75%	15
FE ₁₀₀ C	3,8%	25,2%	0%	0%	16

¹⁾ sekvenční terapie, ²⁾ konkomitantní terapie, ³⁾ veškerá hematologická toxicita, predominantně neutropenie a leukopenie, ⁴⁾ veškerá gastrointestinální toxicita, predominantně mukositis a průjem

to enzym se nachází jak ve zdravých, tak v nádorových buňkách. Nedostatečná aktivita DPD ve zdravých buňkách způsobuje vysokou toxicitu léčby, naopak nadměrná aktivita enzymu pozorovaná u některých nádorů vysvětluje jejich rezistenci k 5-fluorouracilu.

Defekty aktivity DPD jsou způsobeny dvěma typy poruch. Mutace v genu pro DPD mohou způsobit změnu aminokyseliny složení v proteinu DPD, jejímž důsledkem je snížení jeho katalytické aktivity (tabulka 1.)²⁾. Četnost mutací v genu pro DPD je v běžné populaci popisována mezi 1 – 5,8%^{3, 4)}. Se sníženou expresí fyziologické varianty DPD se setkáváme buď jako s náhodným nálezem u asymptomatických jedinců, nebo jako součástí vzácného, autosomálně recesivního onemocnění projevujícího se neurologickými defekty⁵⁾, a konečně též u nemocných, u kterých se v důsledku léčby fluoropyrimidiny vyskytne významná, život ohrožující toxicita⁶⁾. Aktivita DPD je u žen asi o 15% nižší než u mužů⁷⁾. Z pohledu klinika by bylo velice vhodné, aby nemocní, u kterých je plánována léčba fluoropyrimidiny, podstoupili testování na aktivitu enzymu DPD. Předěšlo by se tak mnohým život ohrožujícím komplikacím, které jsou zvláště nešťastné, jedná-li se o léčbu adjuvantní. Prakticky však takovéto testování naráží v současné době na mnohé laboratorní, organizační a ekonomické problémy, které neumožňují jeho širokoplošné provádění.

Přesto lékaři Onkologické kliniky VFN a 1. LF UK ve spolupráci s pracovníky Ústavu patologické fyziologie 1. LF UK a Ústavu biochemie a experimentální onkologie 1. LF UK považují screening exprese DPD genu a jeho mutační analýzu v dlouhodobém horizontu za možnou.

K dosažení tohoto ambiciózního cíle je třeba provést pilotní experiment, jehož podstatu zmiňujeme níže. Jde o projekt, jenž má pomoci vyřešit otázky klinika:

„Mám pokračovat v terapii režimem založeným na fluoropyrimidinech i přesto, že u nemocného došlo k rozvoji toxicity

GIII a GIV, a nebo je vhodnější podat jiný režim bez fluoropyrimidinů?“

a současně odpovídá na otázky laboratorních pracovníků: „Jaká je četnost mutací a snížené exprese genu pro DPD u nemocných s toxicitou GIII a GIV léčených fluoropyrimidiny?“

Organizační postup pro objednávání vyšetření a sdělování výsledků je uveden ve schématu 2.

Schéma 2.: Sled kroků klinické a laboratorní části programu „DPD online“.

KROK 1: Identifikace nemocného k vyšetření

Podezření na poruchy exprese nebo mutaci v genu DPD vyslovujeme tehdy, dochází-li po podání režimů s 5FU nebo jeho deriváty k rozvoji toxické reakce třetího nebo čtvrtého stupně v jednom z orgánových systémů.

U takového pacienta je vhodné provést analýzu genu DPD.

KROK 2: Registrace nemocného k vyšetření

Postupujte pomocí formuláře připraveného na webových stránkách Komplexního onkologického centra www.koc.cz.

Po odeslání žádosti o vyšetření Vám bude do jednoho pracovního dne doručena službou EMS České pošty obálka se dvěma zkuševkami (pro izolaci DNA a RNA) a návratovou obálkou.

KROK 3: Odběr krevního vzorku a transport vzorku do laboratoře

Naplňte obě zkuševky vzorkem žilní krve. Po odběru je několikrát **důkladně protřepejte**. Do doby odeslání zkuševky se skladujte v lednici při +4°C, nejdéle však 24 hodin.

Odešlete zkuševku na příloženou adresu.

Výsledek Vám bude sdělen do 14 dnů emailem nebo poštou.

KROK 4: Interpretace výsledku

Nález mutace v genu pro DPD, normální exprese genu pro DPD:

vysoké riziko opakování toxické reakce v důsledku nízké detoxikace 5FU a jeho derivátů. Upravte režim podle tabulky 1.

Nález mutace v genu pro DPD, nízká exprese genu pro DPD:

vysoké riziko opakování toxické reakce v důsledku nízké detoxikace 5FU a jeho derivátů. Upravte režim podle tabulky 1.

Mutace v genu pro DPD nenalezena, nízká exprese genu pro DPD:

vysoké riziko opakování toxické reakce v důsledku nízké detoxikace 5FU a jeho derivátů. Upravte režim podle tabulky 1.

Mutace v genu pro DPD nenalezena, normální exprese genu pro DPD:

Toxicita byla způsobena faktory nezávislými na funkci enzymu DPD, proto může léčba pokračovat stejným režimem, považuje-li ošetřující lékař podání stejných cytostatik za prospěšné pro pacienta. U nemocných s toxicitou GIV je nutné redukovat dávky protinádorových léků.

KROK 5: Doporučené modifikace protinádorové léčby při nízké expresi DPD nebo při nálezu mutací v genu pro DPD.

Původní režim	Nově navrhaný režim
kolorektální karcinom: FUFA FOLFOX FOLFIRI	irinotekan v monoterapii raltitrexed v monoterapii TOMOX (raltitrexed, oxaliplatin)
karcinom žaludku: FAM FAMTX ELF	cisplatin, irinotekan
nádory hlavy a krku: cisplatin (karboplatin), 5FU	cisplatin (karboplatin), paklitaxel
karcinom prsu: CMF FAC, FEC	AC – T TAC

Literatura

1. Mechanism of action of fluoropyrimidines: relevance to the new developments in colorectal cancer chemotherapy. *Semin Oncol* 2000, 27 (5 suppl. 10), 72 - 77
2. van Kuilenburg A.B.P., Haasjes J., Richel D.J. et al.: Clinical implications of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency in patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity: Identification of new mutations in DPD gene. *Clin Cancer Res* 2000, 6, 4705-4712
3. Fernandez-Salguero P., Gonzales F.J., Kimura S. et al.: Correlation between catalytic activity and protein content for the polymorphically expressed dihydropyrimidine dehydrogenase in human lymphocytes. *Biochem Pharmacol* 1995, 50, 1015-1020
4. Lu Z., Zhang R., Carpenter J.T. et al.: Decreased dihydropyrimidine dehydrogenase activity in a population of patients with breast cancer: implication for 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 1998, 4, 325-329
5. Kouwaki M., Hamajima N., Sumi S. et al.: Identification of novel mutations in dihydropyrimidine dehydrogenase gene in Japanese patient with 5-fluorouracil toxicity. *Clin Cancer Res* 1998, 4, 2999-3004
6. Milano G., Etienne M.C., Barberi-Heyob M. et al.: dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency and fluorouracil (5FU)-related toxicity. *Proc. ASCO* 1998, Abst. 858
7. Milano GT., McLeod H.L.: Can dihydropyrimidine dehydrogenase impact 5-fluorouracil based treatment? *Eur J Cancer* 2000, 36, 37-42
8. Kelsen D.P., Ginsberg R., Pajak T.F. et al.: Chemotherapy followed by surgery compared with surgery alone for localized esophageal cancer. *NEJM* 1998, 339, 1979-1984
9. Posner M.R., Glisson B., Frenette G. et al.: Multicenter phase I-II Trial of docetaxel, cisplatin and fluorouracil induction chemotherapy for patients with locally advanced squamous cell cancer of the head and neck. *J Clin Oncol* 2001, 19, 1096-1104
10. MacDonald J.S., Smalley S.R., Benedetti J. et al.: Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *NEJM* 2001, 345, 725-730
11. Sargent D.J., Goldberg R.M., Jacobson S.D. et al.: A pooled analysis of adjuvant chemotherapy for resected colon cancer in elderly patients. *NEJM* 2001, 345, 1091-1097
12. de Gramont A., Figer A., Seymour M. et al.: Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000, 18, 2938-2947
13. Douillard J.Y., Cunningham D., Roth A.D. et al.: Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet* 2000, 355, 1041-1047
14. Piccart M., Di Leo A., Beauduin M.: Phase III trial comparing two dose levels of epirubicin combined with cyclophosphamide with cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil in node positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2001, 19, 3103-3110.
15. Jassem J., Pienkowski T., Pluzanska A. et al.: Doxorubicin and paclitaxel versus fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide as first line therapy for women with metastatic breast cancer: Final results of a randomized phase III multicenter trial. *J Clin Oncol* 2001, 19, 1707-1715
16. French Adjuvant Study Group: Benefit of high dose epirubicin regimen in adjuvant chemotherapy for node positive breast cancer patients with poor prognostic factors: 5-year follow-up results of French adjuvant study group 05 randomized trial. *J Clin Oncol* 2001, 19, 602-611

KONTAKTY:

Vedoucí projektu:

Doc. MUDr. Luboš Petruželka, Csc.
Onkologická klinika VFN a 1. LF UK
U nemocnice 2, Praha 2, 128 08
t.: 22 49 62 22 19

Koordinátor:

MUDr. Jan Novotný, Ph.D.
Onkologická klinika VFN a 1. LF UK
U nemocnice 2, Praha 2, 128 08
t.: 22 49 62 219, 73 66 88 893

Stanovení exprese DPD:

Mgr. Viktor Sýkora
Ústav patologické fyziologie 1. LF UK
U nemocnice 5, Praha 2, 128 08
t.: 22 49 65 009

Detekce mutací DPD:

MUDr. Zdeněk Kleibl, Ph.D.
Ústav biochemie a experimentální onkologie 1. LF UK
U nemocnice 5, Praha 2, 128 08
t.: 22 49 65 745