

Toxicita a rezistencia 5-fluorouracilovej terapie pri liečbe nádorových ochorení

Zuzana Varchulová Nováková, Andrea Pastoráková, Daniel Böhmer

Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LFUK a UNB, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava
zuzana.varchulova@fmed.uniba.sk

Problematika nádorových ochorení je v súčasnosti veľmi aktuálna. Novou možnosťou diagnostiky onkologických ochorení sú rakovinové biomarkery, ktoré poskytujú mnohé informácie o zmenách v tkanivách na molekulárnej úrovni a tým je možnosť nádor odhaliť skôr a s väčšou presnosťou.

Liečivo 5-fluorouracil (5-FU) je známy pod obchodnými názvami: Aduvion, Carac, Epudex a Fluoroplex; je pyrimidínový analóg, ktorý sa používa pri liečbe rakoviny. Funguje prostredníctvom nesúťažnej inhibície tymidylát syntetázy. Pridaním leukovorínu, kyseliny listovej, ktorá stabilizuje väzbu 5-FU s enzýmom zvyšuje sa inhibícia syntézy DNA [1]. Chemoterapia pomocou 5-fluorouracilu (5-FU) pri liečbe rakoviny sa používa približne 40 rokov. Pôsobí mnohými spôsobmi, ale hlavne ako inhibítor tymidylát syntetázy. Porušuje činnosť tohto enzýmu, zablokovaním syntetázy pyrimidínu, čo je nukleotid potrebný pre replikáciu DNA. 5-FU sa používa pri liečbe kolorektálneho karcinómu, karcinómu pankreasu, ale tiež pri liečbe zápalovej rakovine prsníka, najmä pri jej agresívnej forme. Využíva sa tiež aj v očnej chirurgii, pri trabekulektómii, čo je operácia, ktorá sa vykonáva na zníženie vnútroočného tlaku u pacientov s glaukómom [1].

Hlavným cieľom práce bolo testovať toxicitu 5-FU v podmienkach *in vitro* a stanoviť LD₅₀. Parciálnym cieľom bola izolácia RNA, ktorá bude neskôr použitá pre sledovanie expresie troch vybraných génov – DPYD (dihydropyrimidín dehydrogenáza), MTHFR (metyléntetrahydrofolát reduktáza) a TYMS (tymidylát syntetáza) po ovplyvnení 5-FU.

V experimente bola použitá bunková línia A 549 (bunky pľúcneho karcinómu). Bunky boli kultivované v kultivačnom médiu D-MEM s 10 % fetálneho teľacieho séra a antibiotikami. Vykonané boli MTT proliferačné testy, v ktorých boli bunky vystavené pôsobeniu koncentračného rozpätia od stokrát riedeného až po neriedený 5-FU. RNA bola izolovaná štandardným postupom, bola pripravená cDNA a bola archivovaná pre ďalšie použitie.

Pri koncentráciách stokrát riedeného 5-FU sa proliferácia pohybovala v rozmedzí 80 % až 90 %. Proliferácia pri neriedenom 5-FU klesla až po hranicu 30 %. LD₅₀ sa nám podarilo stanoviť pri koncentráciách desaťkrát riedeného 5-FU.

Analýza našich výsledkov by mala byť cenným poznatkom pre odhad fatálnych reakcií na chemoterapiu, ku ktorým dochádza v dôsledku intoxikácie pacienta. Preto je potrebné vykonať aj ďalšie experimenty.

[1] M.Malet-Martino, R. Martino, Clinical Studies of three oral prodrugs of 5-fluorouracil. *The Oncologist*, 2002, 7, 288–323.