

## **Abstrakt (teze):**

Palmární-plantární erythrodysesthesie (PPE) je nežádoucí účinek doprovázející antineoplastickou terapii při podávání 5-fluorouracilu formou kontinuální infuze, případně při dlouhodobé terapii kapecitabinem (proléčivo 5-FU). V nejzávažnějších případech PPE znemožňuje další pokračování v potřebné terapii. V léčbě a prevenci tohoto nežádoucího účinku je používána lokální aplikace uridinu ve formě 10 % masti, nicméně tento postup nebyl dosud ověřen randomizovanými studiemi a není všeobecně přijímán. PPE je způsobena s největší pravděpodobností přímým vlivem cytostatika na kůži dlaní a plosek nohou. Toxicita 5-FU je zprostředkována především jeho inkorporací do RNA a inhibicí thymidylát synthasy (TS), která vyústí v poruchu synthasy DNA. U odlišných typů buněk mají tyto mechanismy pro rozvoj toxicity 5-FU různý význam. Při hledání specifického antidota v terapii PPE je proto nezbytné zjistit jaký molekulární mechanismus toxicity 5-FU se uplatňuje u keratinocytů.

Jako nejvhodnější látky pro použití v lokální terapii PPE jsme vybrali pyrimidinové nukleosidy, především uridin, který je ve formě 10 % uridinové masti v této indikaci využíván v několika onkologických centrech ve Střední Evropě. Jako prostředek pro zjištění mechanismu působení 5-FU jsme dále testovali účinek kalciumfolinátu (CF), který zesiluje inhibici thymidylát synthasy 5-fluorouracilem. Jako další potenciální antidota jsme studovali uracil a pyridoxin. Pro ověření potenciálu jednotlivých látek antagonizovat toxické účinky 5-FU jsme provedli *in vitro* testy na buněčné linii spontánně immortalizovaných lidských keratinocytů HaCaT. Některé testy jsme zopakovali rovněž na primárních keratinocytech. Použili jsme 3 rozdílné a vzájemně se doplňující metody testování viability buněk: mikroskopické hodnocení vývoje morfologických změn dokumentovaných mikrofotografiemi, hodnocení metabolické aktivity pomocí MTT testu a hodnocení časového vývoje adherence buněk k podkladu pomocí RTCA testu.

Uridin významně prodlužoval přežití buněk v přítomnosti 5-FU. Uridin zabraňuje inkorporaci 5-FU do RNA a lze tedy dovozovat, že tento mechanismus účinku 5-FU je pro HaCaT keratinocyty zásadní. Pokud jsme k uridinu přidali thymidin, došlo k dalšímu nárůstu metabolické aktivity a prodloužení přežití buněk. Tento efekt byl spíše synergický než aditivní. Samotný thymidin přežívání buněk neprodlužoval. Lze tedy dovozovat, že thymidin,

který snižuje význam inhibice TS 5-fluorouracilem, prodlužuje přežití buněk až v případě, že je zablokována inkorporace 5-FU do RNA. Tuto hypotese jsme potvrdili rovněž pomocí CF, který toxicitu 5-FU zvyšoval pouze v případě, že jsme zablokovali inkorporaci 5-FU do RNA uridinem. Pokud na buňky působil samotný 5-FU, nebyla toxicita přidáním CF zvýšena. Uridin tedy „přepíná“ mechanismus toxicity z RNA inkorporace na inhibici TS, která může být dále zesílena CF. V případě, že v médiu buněk byl přítomen 5-FU, uridin i thymidin, nebyla toxicita 5-FU dále zvyšována při přidání CF, což potvrzuje, že se inhibice TS 5-fluorouracilem v přítomnosti thymidinu významně neuplatňuje. Zároveň jsme potvrdili, že stejným způsobem jako uridin snižuje toxicitu 5-FU také cytidin, pravděpodobně poté, co je metabolisován na uridin. Uracil vykazoval významně nižší efekt než uridin. Deoxyuridin a pyridoxin neovlivňovaly toxicitu 5-FU vůbec.

Potvrdili jsme, terapie a prevence PPE 10 % uridinovou mastí lze podpořit *in vitro* důkazy o účinku uridinu jako antidota 5-FU u HaCaT keratinocytů. Tento účinek jsme navíc potvrdili rovněž několika pokusy na primárních keratinocytech. Teoreticky je možné stejným způsobem použít i cytidin, nicméně jeho nižší stabilita (nutnost skladovat v chladu) komplikuje klinické použití. Zároveň lze doporučit uvážit pro případné další klinické testování kombinaci uridinu a thymidinu za účelem zvýšení efektu v terapii PPE.

**Klíčová slova:** Palmární-plantární erythrodysesthesie, Hand-foot syndrome, 5-fluorouracil, uridin, cytidin, thymidin