

BASI SCIENTIFICHE

La diidropirimidina deidrogenasi (DPYD) è l'enzima chiave coinvolto nel catabolismo del 5-fluorouracile (5-FU), il chemioterapico più utilizzato nel trattamento di tumori solidi, e di composti di analoga struttura chimica, essendo responsabile della degradazione di questo analogo pirimidinico al suo metabolita inattivo diidrofluorouracile. L'80-90% del 5-FU somministrato viene degradato dall'enzima diidropirimidina deidrogenasi (DPYD) principalmente a livello del fegato. Esiste tuttavia una grande eterogeneità individuale dell'attività enzimatica potendo variare fino a 8-21 volte. Pazienti con bassa attività enzimatica per la DPYD non sono in grado di inattivare con efficienza il 5-FU con il risultato di una maggiore biodisponibilità del farmaco che può causare gravi tossicità ematologiche, neurologiche e gastrointestinali.

SIGNIFICATO CLINICO

Sono stati evidenziati molti polimorfismi a singolo nucleotide nella complessa struttura del gene DPYD responsabili di un inefficiente metabolismo del farmaco con conseguente aumento del rischio di tossicità grave anche potenzialmente fatale; tra essi il più frequente è la mutazione puntiforme G→A in un sito di splicing dell'esone 14 (IVS14+ 1G>A), che risulta essere implicata del corretto splicing dell'esone 14. Se è presente, questa sostituzione nucleotidica comporta la perdita dell'esone stesso e la formazione di un prodotto proteico incompleto e privo di attività enzimatica. Sebbene un'alta percentuale delle tossicità da 5-FU osservate, possano essere dovute a deficienze enzimatiche distinte dalla DPYD ed esistano numerose mutazioni del gene DPYD che possono portare all'assenza totale di attività enzimatica, la presenza di questa variante allelica (conosciuta anche come allele DPYD*2A) è presente in circa l'1% della popolazione generale e rende conto di circa il 50% di tutte le deficienze di DPYD. Inoltre, per causare insufficienza enzimatica e tossicità da 5-FU, è sufficiente la presenza della sostituzione solo su uno dei possibili alleli. Per questi motivi lo screening per questo polimorfismo in soggetti che necessitano di un trattamento chemioterapico a base di 5-FU può risultare di particolare interesse nella pratica clinica oncologica. La presenza del genotipo omozigote DPYD*2A provoca una completa mancanza dell'enzima DPYD, mentre il genotipo eterozigote risulta in una parziale deficienza dell'enzima stesso. Due mutazioni meno comuni, ossia l'I560S in posizione 1679T> G (conosciuta anche come allele DPYD*13) e la variante c.2846 A>T sono associate a una diminuita attività di DPYD e quindi ad un aumento di tossicità dovuto al 5-FU, riscontrata in circa il 2% dei pazienti trattati con tale chemioterapico. L'isoleucina in posizione 560 è conservata sia nell'uomo che in altre specie (topo, ratto, bovino e suino), suggerendo la sua importanza nel mantenere l'attività enzimatica del DPYD. La mutazione DPYD*13 non è stata rilevata in individui con normale attività dell'enzima DPYD.

INFORMAZIONI E PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO

Il kit permette l'identificazione delle seguenti mutazioni nel gene DPYD:

- DPYD*2A (IVS14+1 G>A rs 3918290);
- DPYD*13 T>G in posizione c.1679 Ile560Ser (rs 55886062);
- DPYD A>T in posizione c.2846 Asp174Val (rs 67376798);

Le suddette mutazioni sono raccomandate dall'AIOM-SIAPEC per i pazienti sia in pre che post-terapia con le fluoropirimidine.

L'analisi dei risultati sarà effettuata dal programma specifico (ALLELIC DISCRIMINATION) dello strumento Real-Time PCR precedentemente impostato. In ogni caso, comunque, risulta utile analizzare anche i grafici dell'AMPLIFICATION PLOT, per accertarsi che la reazione sia avvenuta in modo corretto.

CARATTERISTICHE TECNICHE

- **Principio del metodo:** A) Estrazione del DNA genomico
B) Amplificazione e Rivelazione con un sistema di Real-Time PCR.
- **Applicabilità:** su DNA genomico estratto e purificato da campioni di sangue intero e tessuto paraffinato.
- **Numero di test:** 25
- **Stabilità:** fino alla data di scadenza indicata sul prodotto.
- **Specificità Analitica:** Assenza di appaiamenti aspecifici di oligonucleotidi e sonde; Assenza di cross-reattività.
- **Sensibilità Analitica:**
LOD: ≥ 0,016 ng di DNA
LOB: 0% NCN.
- **Riproducibilità:** 99,9%.
- **Specificità e Sensibilità Diagnostica** 100%/98%

RDM 1674567/R
CND W010699



UNI EN ISO 9001
UNI CEI EN ISO 13485

Il kit IVD è marcato CE.
Conforme alla direttiva 98/79.