

طفرة جينة NUDT15 R139C تزيد من خطورة تطور سمية محرضة بمركبات mercaptopurine عند مريضة سورية: تقرير حالة

محمد محمد*

ماهر سيفو**

الملخص

خلفية البحث وهدفه: يعد دواء المراكابتوبورين (6MP) mercaptopurine حجر الأساس في علاج مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد ولاسيما في مرحلة الصيانة.

إن الهدف من عرض هذه الحالة هو إيضاح أسباب تطور تثبيط نقوي شديد عند مريضة مشخص لها ابيضاض لمفاوي حاد ولاسيما عندما تلقت العلاج في المرحلة المكثفة ومرحلة الصيانة. وتم التحري عن نمط جينة NUDT15 باستخدام تقنية Polymerase chain reaction PCR.

النتائج: أظهرت النتائج أن المريضة حاملة للنمط المتجانس homozygous carrier من الشكل الطافر T (C>T415) لجينة NUDT15 ذات الرقم rs116855232. وأن المريضة لم تتحمل سوى (4.99%) من الجرعة التي من المفترض أن تتلقاها خلال مرحلة الصيانة. وإن النمط المتجانس الطافر لجينة NUDT15 (TT) يسبب سمية دموية شديدة حتى مع جرعات منخفضة لمركبات البورين المراكابتوبورين 6MP.

الخلاصة: يجب تحديد النمط الجيني لجينة NUDT15 قبل بدء العلاج بمركبات البورين 6MP، وعلى أساس التحليل السابق تعدل جرعات الدواء السابق فيما يطلق عليه اسم شخصنة العلاج عند مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد. الكلمات المفتاحية: NUDT15 ، mercaptopurine ، سمية دموية، ابيضاض لمفاوي حاد.

* طالب دكتوراه في قسم الأورام، مشفى البيروني الجامعي، كلية الطب البشري، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

** أستاذ مساعد في قسم الأورام، مشفى البيروني الجامعي، كلية الطب البشري، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

NUDT15 R139C variation increase the risk of mercaptopurine induced toxicity in Syrian subject: A case report

Muhammad Muhammad*

Maher Saifo**

Abstract

Background & Aim: Mercaptopurine (6MP) is a cornerstone in treatment of acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients especially in maintenance therapy.

Aim: The aim of this case to clarify the reasons for severe myelosuppression in a patient with ALL that received consolidation and maintenance therapy. The present case performed patient NUDT15 testing with PCR technique.

Results: The results revealed that the patient was homozygous carrier (415C>T) for rs116855232 (NUDT15). The patient just received (4.99%) of the recommended dose. The homozygous mutant (TT genotype) of NUDT15 may cause hematopoietic toxicity with low doses of 6MP.

Conclusion: NUDT15 genotyping should therefore be performed prior to the administration of thiopurine, to personalize the treatment in ALL patients.

Key words: NUDT15, mercaptopurine, hematopoietic toxicity, acute lymphoblastic leukemia

* Department of oncology, Al-Bairouni University Hospital, Faculty of Medicine, Damascus University, Damascus, Syria.

** Associate Professor, Department of oncology, Al-Bairouni University Hospital, Faculty of Medicine, Damascus University, Damascus, Syria

المقدمة:

يعد الابيضاض اللمفاوي الحاد من أشيع الأورام التي تصيب الأطفال؛ إذ يشكل حوالي 25 - 30 % من مجمل الأورام عند هذه الفئة. (Vaitkeviciene et al., 2013)، ويُصنف الأطفال في المراحل الأولى من المعالجة إلى منخفضي أو متوسطي أو عاليي الخطورة تبعاً لبعض العوامل الإنذارية. ومن أهم هذه العوامل العمر، وتعداد الكريات البيض، ووجود ارتشاح سحائي للورم، ووجود ارتشاح بالخصيتين، والصفات المورفولوجية والجزئية والصبغية للابيضاض، والاستجابة للعلاج على البريدلون، وأخيراً تعداد الخلايا الورمية في نهاية المرحلة الهجومية فيما يطلق عليه اسم البقيا الأصغرية للورم minimal residual (disease MRD). (Tumer et al., (Behrman, 2005). (Moorman et al., 2007)2007) وتتضمن مراحل علاج الابيضاض اللمفاوي الحاد 4 مراحل بالمجمل: المرحلة الهجومية (Induction Phase)، والمرحلة المكثفة (Consolidation)، ومرحلة التعزيز (Intensification)، وأخيراً مرحلة الصيانة (maintenance phase). وتحسنت نسب البقيا بشكل كبير بعد أن تحسنت بروتوكولات العلاج الكيماوي المتبعة. ومن أهم التأثيرات الجانبية للعلاج الكيماوي السمية الدموية التي تعد من أشيع التأثيرات وما تحمله من مخاطر حصول النكس نتيجة الإيقاف المتكرر للمعالجة.

وتُستخدم مركبات البورين mercaptopurine (6MP) بشكل شائع في مختلف مراحل علاج الابيضاض اللمفاوي الحاد ولاسيما في المرحلة المكثفة، ومرحلة تعزيز الهوادة، ومرحلة الصيانة. وتُستخدم مركبات البورين لفترة طويلة تستمر من 2-3 سنوات ولاسيما في مرحلة الصيانة. وإن السمية النقية المهدة للحياة والمحرضة ب 6MP مرتبطة بشكل أساسي بتعددات شكلية لجينات تؤدي دوراً في

استقلاب المركبات السابقة، ومن أهم هذه الجينات: inosine (thiopurine methyltransferase (TPMT) nudix hydrolase (triphosphatase (ITPA) (NUDT15). (Moriyama et al., (Zgheib et al., 2017). (2017)

وإن نسب انتشار التعدد الشكلي لجينة TPMT منخفضة في المجتمعات الآسيوية، وعلى النقيض من ذلك فإن التعدد الشكلي لجينة ITPA وجينة NUDT15 يعد من الأسباب المهمة لتطور سمية نقوية شديدة محرصة بمركبات البورين 6MP عند المجتمعات السابقة. (Milosevic et al., (Jarosław Peregud-Pogorzelski MD, 2018) (Khera, 2019)2011)

وتوجد العديد من الدراسات السابقة التي أجريت على مرضى مصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد أو المصابين بالأمراض الالتهابية الهضمية inflammatory bowel disease (IBD). التي تقترح التعدد الشكلي الطافر المتجانس لجينة NUDT15 كسبب أساسي للحساسية على مركبات البورين 6MP التي تسبب سمية نقوية شديدة مهدة للحياة. (Liang et al., 2016)

إن الحالة التي سوف نقوم بذكرها هي أول تقرير يذكر لطفلة سورية مشخص لها ابيضاض لمفاوي حاد التي طورت سمية نقوية شديدة مهدة للحياة بسبب وجود النمط الطافر المتجانس من جينة NUDT15 ذات الرقم rs116855232 (TT genotype).

تقرير الحالة:

قُبلت طفلة بعمر 5 سنوات في وحدة بسمة لعلاج أورام الأطفال في مشفى البيروني الجامعي في شهر أيلول عام 2018. حيث كانت تشكو من ترفع حروري، وقهم، وتعب، ووهن عام، مع سعال مستمر من حوالي 15 يوماً. ولم يكن للطفلة أي سوابق مرضية، ولا وجود لقصة تحسس على الأدوية، ولا وجود لقصة سفر خارج البلد، ولا يوجد أيضاً

الشاذة بعد فترة العلاج السابقة. وفي أثناء تطبيق المراحل الباكرة من الطور المكثف (consolidation phase) والمكون مما يلي: الإندوكسان 1 غ/م²، وسيتوزار 75 مغ/م²، والمركابتوبورين 60 مغ/م². وطورت المريضة إبتاناً رتوباً شديداً قبلت على إثره في وحدة العناية المشددة، وترافقت الحالة السابقة مع تثبيط نقوي شديد. وبُدء بتخفيض جرعات 6MP في نهاية المرحلة المكثفة إلى حوالي 50% من الجرعة المقررة بشكل تخبري. ثم بدأت المريضة بمرحلة الصيانة التي تحتوي على 6MP بجرعات 75 مغ/م² في بداية المرحلة، ثم 50 مغ/م² في مراحل لاحقة. إذ عانت المريضة من انخفاض في تعداد الكريات البيض بين الحين والآخر، وقُبلت عدة مرات بحمي نقص عدلات في وحدة بسمة. وبعد كل قبول تم خفضت جرعات 6MP حتى الوصول ل 5 % من الجرعة المقررة في البروتوكول دون معرفة السبب الكامن وراء ذلك. وبشكل راجع أُدخلت المريضة في دراسة أعدت للتحري عن انتشار التعدد الشكلي لجينة NUDT15 في المجتمع السوري. فقد أُجري تحليل PCR على جينة NUDT15 ذات الرقم rs 116855232. وكانت نتيجة التحليل أن الطفلة حاملة للشكل الطافر من جينة NUDT15 ذات الرقم rs116855232 من النمذج TT (C>T415) شكل رقم 1. وفي أثناء متابعة المريضة لم يتم قياس مستويات 6-thioguanine بالبالزما؛ لعدم توافر التحليل لدينا، وعُدلت جرعات 6MP من 50% وحتى 5% بشكل تخبري، وذلك بعد تطور سميات دموية شديدة. إن تعديل جرعات 6MP تم بناء على شدة الأعراض النقوية. وبعد حوالي 6 أشهر من المتابعة ضُبُطت جرعة 6MP، وراجعت المريضة بشكل منتظم مع جرعة 6MP حوالي 5 % من الجرعة المقررة في البروتوكول.

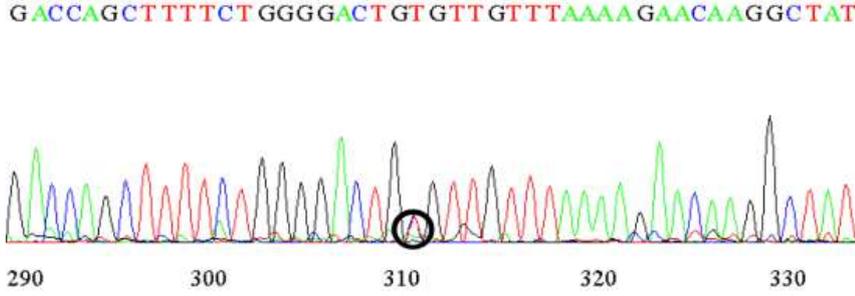
قصة تعرض لأي نوع من أنواع السموم، ولا توجد أي قصة عائلية للإصابة بالأورام. وبالفحص السريري ثبت أن هناك شحوب شديد بالجلد، ولا وجود لفرطريات على سطح الجلد، أو وذمات بالطرفين السفلين، ولا وجود لعقد لمفاوية متضخمة في أي مكان من الجسم، ولا خراخر مسموعة بالساحتين الرئويتين، وإصغاء القلب منتظم، ولا نفخات مسموعة، و البطن لين منتفخ كما أن الكبد غير مجسوس، والطحال غير مجسوس.

وأجري تعداد عام حيث أظهر الآتي: الكريات البيض 4×10^9 في كل ليتر (المناسب الطبيعية تتراوح بين $4 - 10 \times 10^9$) مع تعداد صفيحات منخفض 13×10^9 في كل ليتر (المناسب الطبيعية $100 - 300 \times 10^9$)، أما بالنسبة للخضاب 7 gm/dl (المناسب الطبيعية تتراوح بين 11.5 - 14).

وأجري بزل نقي عظم، وتبين وجود أرومات تتماشى بشكلها المورفولوجي مع الابيضاض اللمفاوي الحاد (ALL). وإجراء تحليل فلوسايتومتري Flowcytometry أظهر إيجابية CD34، HLA-DR، CD10، CD19، وإيجابية جزئية ل CD33.

وأجري بزل للسائل الدماغي الشوكي، وكان سلبي الخلايا الشاذة، وأجري تحليل للصيغة الصبغية karyotype، وكان طبيعي الصيغة 46,xx لدى فحصه في 20 انقساماً (metaphases). وأجريت تحاليل جزيئية molecular test التي لم تظهر أي طفرة جينية من أي نوع.

وشُخصت الحالة السابقة بابيضاض لمفاوي حاد من النمط precursor B St Jude، حيث تم تطبيق بروتوكول low risk protocol total XV للمرضى منخفضي الخطورة. وحققت المريضة الهوادة الدموية التامة بعد 4 أسابيع من تلقي العلاج الكيماوي المكثف من المرحلة الهجومية (Induction phase)، كما كان MRD سلبي الخلايا



الشكل (1): يوضح الآتي: أُجريت سلسلة لقطع amplicon التي تحتوي على الجينة المدروسة NUDT15 ذات الرقم rs116855232 ، وذلك للتعرف على النمط الجيني للمريض الذي كان في هذه الحالة TT genotype.

المناقشة:

وإن التعدد الشكلي لجينة TPMT منتشر بشكل أساسي بين الأفرقة والأوروبيين، بينما ينتشر بشكل منخفض عند المجتمعات الشرق آسيوية. (Tumer et al., 2007) لم يتم إثبات وجود علاقة مهمة بين التعدد الشكلي لجينة ITPA ، وبين تطور سمية نقوية محرضة بمركبات البورين في مرحلة الصيانة استناداً للكلام السابق، وإن تحري وجود طفرة للجينة السابقة غير مسموح قبل البدء بالعلاج بمركبات البورين 6MP. (Khera, 2019) وأظهرت عدة دراسات أن التعدد الشكلي لجينة NUDT15 مرتبط بشكل أساسي بتطور تأثيرات جانبية لمركبات البورين؛ لذلك يوصى بإجراء تحري عن الطفرة في جينة NUDT15 قبل البدء بالعلاج بالمركبات السابقة ولاسيما عند المجتمع الآسيوي. وفي عام 2015 أُجريت دراسة ضمت أطفالاً مشخصاً لهم ابيضاض لمفاوي حاد حيث أظهرت الدراسة علاقة مهمة بين التعدد الشكلي لجينة NUDT15 ذات الرقم (rs116855232)، وبين شدة جرعة 6MP، حيث دخل في الدراسة 657 مريض، 31 مريضاً لديهم النموذج غير المتجانس من الطفرة heterozygous (CT)، ومريضان لديهم النموذج المتجانس من الطفرة homozygous (TT). إن المرضى الحاملين للنموذج المتجانس من الطفرة TT كانوا حساسين بشكل شديد

أُستخدمت مركبات البورين 6MP لمدة 2 - 3 سنوات في مرحلة الصيانة، إن 6MP هو عبارة عن pro-drug يتم قلبه أنزيمياً ل TGTP عن طريق عدة تفاعلات متسلسلة، ثم يتم إرجاع المركب السابق إلى deoxy-thioguanosine triphosphate (TdGTP) الذي ينضم بدوره لسلسلتي الدنا في أثناء الانقسام حيث يحرض على تشكيل روابط غير فعالة mismatch التي توجه الخلية بدورها نحو الموت الخلوي المبرمج apoptosis. (Loscalzo, 2011)(Genet, (Moriyama et al., 2017) (2016) إن السمية النقوية المحرضة بمركبات البورين مرتبطة بشكل أساسي بتعددات شكلية لجينة TPMT و ITPA. إن أهم أربع أليات طافرة لجينة TPMT هي: TPMT*2 (238G>C)، TPMT*3A (460G>A)، TPMT*3B (460G>A)، TPMT*3C (719A>G)، TPMT*3C (A>G719). وإن الطفرات السابقة مسؤولة عن التغيرات في فعالية أنزيم TPMT. إن الأليلين الطافرين TPMT*3A، TPMT*3C مرتبطان بشكل أساسي مع شدة جرعات مركبات البورين. (Jarosław Peregud-.Pogorzelski MD, 2011) (Milosevic et al., 2018)

الخلاصة:

إن التقرير المقدم هو أول حالة لطفلة سورية مشخص لها ابيضاض لمفاوي حاد التي اختبرت سمية نقوية محرّضة بمركبات البورين 6MP ، وكانت مهددة للحياة، فقد كان لديها النموذج الطافر المتجانس من جينة NUDT15 (TT genotype) ذات الرقم rs116855232. وإن هذا التقرير يوضح أهمية علم الجينات الدوائي في الكشف عن التعددات الشكلية لجينات لها علاقة باستقلاب مركبات البورين، وذلك قبل بدأ علاج الأطفال المصابين بالابيضاض اللمفاوي الحاد؛ لذلك يوصى بإجراء دراسات إضافية للتعرف على تعددات شكلية لجينات أخرى متورطة في استقلاب مركبات البورين حتى تكون أرضية لمعرفة الجرعات المناسبة، والمدة اللازمة للعلاج الأمثل لكل طفل على حدة الذي يطلق عليه اسم شخصنة العلاج، حتى نتجنب تأثيرات جانبية، ونحقق الفعالية المثلى للعلاج.

لمركبات البورين، حيثُفصت جرعة مركبات البورين إلى 8.3% من الجرعة المقررة في البروتوكول. (Yang et al., 2015) إن التعدد الشكلي لجينة NUDT15 منتشر عند الهيسبانيك والمجمعات شرق آسيوية، لكنه نادر عند الأوروبيين، ولم يلاحظ عند الأفارقة. (Zhou et al., 2018) (Yin et al., 2017) ، وفي دراسة كورية سابقة تبين وجود 5 مرضى من أصل 182 مريض مشخص لهم ابيضاض لمفاوي حاد، يمتلكون النموذج المتجانس من الشكل الطافر لجينة NUDT15 حيث كانت أقل جرعة من مركبات البورين 6MP 7.5 مغ/م² باليوم. (Puangpetch et al., 2020)

References:

1. Behrman, R. M. K. M. H. B. J. R. E. (2005). *Nelson Essentials of Pediatrics*.
2. Genet, N. (2016). *NUDT15 Polymorphisms Alter Thiopurine Metabolism and Hematopoietic Toxicity HHS Public Access Author manuscript*. 48(4), 367–373. <https://doi.org/10.1038/ng.3508>.NUDT15
3. Jarosław Peregud-Pogorzelski MD, P. (2011). Thiopurine S-methyltransferase (TPMT) polymorphisms in children with acute lymphoblastic leukemia, and the need for reduction or cessation of 6-mercaptopurine doses during maintenance therapy: The Polish multicenter analysis. *Pediatric Blood and Cancer*, 57(4), 578–582.
4. Khera, S. (2019). Prevalence of TPMT, ITPA and NUDT 15 genetic polymorphisms and their relation to 6MP toxicity in north Indian children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 83, 341–348.
5. Liang, D. C., Yang, C. P., Liu, H. C., Jaing, T. H., Chen, S. H., Hung, I. J., Yeh, T. C., Lin, T. H., Lai, C. L., Lai, C. Y., & Shih, L. Y. (2016). NUDT15 gene polymorphism related to mercaptopurine intolerance in Taiwan Chinese children with acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics Journal*, 16(6), 536–539. <https://doi.org/10.1038/tpj.2015.75>
6. Loscalzo, D. E. H. R. C. J. (2011). Thiopurine Pathway Pharmacogenet Genomics NIH Public Access. *Bone*, 23(1), 1–7. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328334338f>.Thiopurine
7. Milosevic, G., Kotur, N., Krstovski, N., Lazic, J., Zukic, B., Stankovic, B., Janic, D., Katsila, T., Patrinos, G. P., Pavlovic, S., & Dokmanovic, L. (2018). Variants in TPMT, ITPA, ABCC4 and ABCB1 Genes as Predictors of 6-Mercaptopurine Induced Toxicity in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of Medical Biochemistry*, 37(3), 320–327. <https://doi.org/10.1515/jomb-2017-0060>
8. Moorman, A. V., Harrison, C. J., Buck, G. A. N., Richards, S. M., Secker-Walker, L. M., Martineau, M., Vance, G. H., Cherry, A. M., Higgins, R. R., Fielding, A. K., Foroni, L., Paietta, E., Tallman, M. S., Litzow, M. R., Wiernik, P. H., Rowe, J. M., Goldstone, A. H., & Dewald, G. W. (2007). Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): Analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood*, 109(8), 3189–3197. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-10-051912>
9. Moriyama, T., Yang, Y. L., Nishii, R., Ariffin, H., Liu, C., Lin, T. N., Yang, W., Lin, D. T., Yu, C. H., Kham, S., Pui, C. H., Evans, W. E., Jeha, S., Relling, M. V., Yeoh, A. E. J., & Yang, J. J. (2017). Novel variants in NUDT15 and thiopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia from diverse ancestry. *Blood*, 130(10), 1209–1212. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-05-782383>
10. Puangpetch, A., Tiyasirichokchai, R., Pakakasama, S., Wiwattanakul, S., Anurathapan, U., Hongeng, S., & Sukasem, C. (2020). NUDT15 genetic variants are related to thiopurine-induced neutropenia in Thai children with acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics*, 21(6), 403–410. <https://doi.org/10.2217/pgs-2019-0177>
11. Tumer, T. B., Ulusoy, G., Adali, O., Sahin, G., Gozdasoglu, S., & Arinç, E. (2007). The low frequency of defective TPMT alleles in Turkish population: A study on pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *American Journal of Hematology*, 82(10), 906–910. <https://doi.org/10.1002/ajh.20947>
12. Vaitkeviciene, G., Heyman, M., Jonsson, O. G., Lausen, B., Harila-Saari, A., Stenmarker, M., Taskinen, M., Zvirblis, T., Åsberg, A., Groth-Pedersen, L., Rageliene, L., & Schmiegelow, K. (2013). Early morbidity and mortality in childhood acute lymphoblastic leukemia with very high white blood cell count. *Leukemia*, 27(11), 2259–2262. <https://doi.org/10.1038/leu.2013.137>

13. Yang, J. J., Landier, W., Yang, W., Liu, C., Hageman, L., Cheng, C., Pei, D., Chen, Y., Crews, K. R., Kornegay, N., Wong, F. L., Evans, W. E., Pui, C. H., Bhatia, S., & Relling, M. V. (2015). Inherited NUDT15 variant is a genetic determinant of mercaptopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, *33*(11), 1235–1242. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.59.4671>
14. Yin, D., Xia, X., Zhang, J., Zhang, S., Liao, F., Zhang, G., Zhang, Y., Hou, Q., Yang, X., Wang, H., Ma, Z., Wang, H., Zhu, Y., Zhang, W., Wang, Y., Liu, B., Wang, L., Xu, H., & Shu, Y. (2017). Impact of NUDT15 polymorphisms on thiopurines-induced myelotoxicity and thiopurines tolerance dose. *Oncotarget*, *8*(8), 13575–13585. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14594>
15. Zgheib, N. K., Akika, R., Mahfouz, R., Aridi, C. Al, Ghanem, K. M., Saab, R., Abboud, M. R., Tarek, N., El Solh, H., & Muwakkit, S. A. (2017). NUDT15 and TPMT genetic polymorphisms are related to 6-mercaptopurine intolerance in children treated for acute lymphoblastic leukemia at the Children's Cancer Center of Lebanon. *Pediatric Blood and Cancer*, *64*(1), 146–150. <https://doi.org/10.1002/pbc.26189>
16. Zhou, H., Li, L., Yang, P., Yang, L., Zheng, J. E., Zhou, Y., & Han, Y. (2018). Optimal predictor for 6-mercaptopurine intolerance in Chinese children with acute lymphoblastic leukemia: NUDT15, TPMT, or ITPA genetic variants? *BMC Cancer*, *18*(1), 2018–2019. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4398-2>