

Farmakokinetika, účinek a tolerabilita 5-fluorouracilu během předoperační chemoradioterapie lokálně pokročilého karcinomu rekta

Jiří Grim¹, Miloš Hroch², Jaroslav Chládek², Ondřej Slanář³, Jiří Petera¹, Jiřina Martínková²

¹Klinika onkologie a radioterapie FN Hradec Králové

²Ústav farmakologie, UK v Praze, LF v Hradci Králové

³Ústav farmakologie 1. LF UK a VFN, Praha

Účel studie: Hlavním cílem studie bylo odhadnout dosažení patologické kompletní odpovědi nemocných trpících lokálně pokročilým adenokarcinomem rekta po předoperační (neoadjuvantní) chemoradioterapii (CHRT) s využitím individuálních farmakokinetických parametrů 5-fluorouracilu (5-FU). Sekundárním cílem bylo hodnocení bezpečnosti a snášenlivosti léčby.

Tato otevřená prospektivní studie podporovaná grantem IGA NS 9693–04/2008 zahrnuje 34 dospělých s lokálně pokročilým karcinomem konečníku ozařovaných do celkové dávky 50,4 Gy ve 28 frakcích po 1,8 Gy 10–15 MV paprsky v režimu 5 + 2 (5 dní radioterapie, 2 dny volno) s kontinuálně podávaným 5-FU v i. v. infuzi 200–1000 mg/m² po dobu 4–5 týdnů kontinuálně 7denní infuzí. Chirurgická resekce následovala 4–6 týdnů po ukončení CHRT a po klinickém restagingu. Hodnocena byla klinická a patologická odpověď na chemoradioterapii pomocí zobrazovacího (MR) a histopatologického vyšetření, vyjádřená v % jako reziduální choroba.

Výsledky a závěr: Výsledek dokládá vztah mezi velikostí kumulativní dávky 5-FU a kumulativní AUC 5-FU ($r = 0,61$, $p < 0,001$). Podobný vztah byl prokázán mezi kumulativní AUC 5-FU a metabolickým poměrem (poměr dosažených plazmatických koncentrací neaktivního metabolitu dihydrofluorouracilu (5-FUH₂) ku koncentracím 5-FU, $r = -0,80$, $p < 0,0001$). Kumulativní AUC korelovala se stupněm odpovědi na léčbu ($r = -0,53$, $p < 0,005$) a určovala také stupeň toxicity léčby. Pokud bychom chtěli dosáhnout kompletní patologickou odpovědi, pak by denní dávka 5-FU měla být u středně rychlého metabolizéra >350 mg/m² a kumulativní AUC_{1–39 dní} > 50 mg/L*h. U žádného z nemocných nebyla nalezena mutace v genu pro dihydropyrimidindehydrogenázu (DPD) a multidrug resistance-1 protein (MDR-1), přesto byla nalezena vysoká interindividuální variabilita v dosažených plazmatických koncentracích 5-FU, a to i s ohledem na cirkadiální rytmus kinetiky léčiva.

Klíčová slova: neoadjuvantní chemoradioterapie, 5-fluorouracil, lokálně pokročilý karcinom konečníku, kineticky vedená terapie.

PK/PD of 5-fluorouracil during neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced rectal carcinoma

Background and Purpose: The main goal of the present study was to estimate the early patients' response following neoadjuvant chemoradiotherapy (CHRT) based on 5-fluorouracil (5-FU) with curative aim in relation to plasma concentrations and pharmacokinetic parameters of 5-FU. Secondary objectives included evaluation of the safety and tolerability of the regimen.

Patients and Methods: This open prospective study enrolls 34 adult patients with locally advanced rectal cancer, who received 5-FU 200–1000 mg/m² administered as a continuous i. v. infusion over 4–5 week and radiotherapy delivered with 10–15 MV photon beams at 1.8 Gy/fraction up to 50.4 Gy in 28 daily fractions for 5 days a week. Surgical resection with curative aim followed 4–6 weeks after the completion of CHRT and clinical restaging. Pathologic response evaluation and the rate of tumor regression was evaluated using tumor downstaging by MR, histopathological staging, and expressed as residual disease (%).

Results and Conclusion: The outcome evidenced the correlation between the cumulative 5-FU dose and cumulative AUC of 5-FU ($r = 0.61$; $p < 0.001$). The similar relationship was demonstrated between the cumulative AUC and metabolic ratio (the plasma concentration of inactive metabolite dihydrofluorouracil 5-FUH₂ to 5-FU; $r = -0.80$; $p < 0.0001$). The cumulative AUC was correlated with tumor regression rate ($r = -0.53$; $p < 0.005$) and determined toxicity grade. To reach pCR, the daily dose of 5-FU in patient with average metabolic ratio of 5-FUH₂/5-FU should be >350 mg/m² and the cumulative AUC_{1–39days} > 50 mg/L*h. No mutation of gene for enzyme dihydropyrimidindehydrogenase (DPD) and multidrug resistance-1 protein (MDR-1) were identified, although the interindividual variability of 5-FU plasma concentration was high, also with regard to circadian 5-FU pharmacokinetics variability.

Key words: neoadjuvant chemoradiotherapy, 5-fluorouracil, locally advanced rectal carcinoma, kinetically guided therapy.

Onkologie 2012; 6(4): 214–218

Úvod

Kolorektální karcinom je třetí nejčastější diagnózou maligního onemocnění u obou pohlaví. 5leté přežití dosahuje 64 % nemocných, a to v 90 % u lokalizovaného onemoc-

nění (stadium I–III), a v 10 % u pacientů s prokázanými nádorovými metastázami v době diagnózy (stupeň IV; 1, 2). Stupeň pokročilosti (generalizace) onemocnění určuje algoritmus léčby a přežití.

Studie prokázaly, že pro stupeň pokročilosti adenokarcinomu konečníku T2–4, N0–2, M0 je optimální použít neoadjuvantní CHRT založenou na standardním předoperačním ozáření za konkomitantního podávání 5-fluorouracilu (5-FU).

Tabulka 1. Demografická data nemocných a charakteristiky nádorového onemocnění

Počet nemocných	34
Věk (roky)	42–78
Průměr (SD)	66,2 (6,3)
Pohlaví	
Muž/žena počet (%)	28/6 (82/18)
TNM počet (%)	
	T2N0M0 0
	T2N1M0 1 (3)
	T2N2M0 0
	T3N0M0 7 (21)
	T3N1M0 6 (18)
	T3N2M0 12 (35)
	T4N0M0 0
	T4N1M0 0
	T4N2M0 8 (24)

Léčba zvyšuje lokální kontrolu a snižuje profily toxicity ve srovnání s pooperační (adjuvantní) CHRT, přitom s podobným celkovým přežitím (4, 5, 6, 7). Po neoadjuvantní CHRT jsou místní recidivy nižší vzhledem k výraznému downstagingu i downgradingu, tj. dosažení významných změn histologických charakteristik primárního tumoru (3, 8, 9). Uzlinové postižení je po takto vedené léčbě méně časté (10) a zvyšuje se i míra zachování rektálního svěrače (11, 12). Těžká akutní toxicita je nižší (méně závažný průjem) a dlouhodobá toxicita je lepší z důvodu nižší incidence chronického průjmu, obstrukce tenkého střeva a striktur v anastomózu.

V poslední době řada studií, zaměřených na adjuvantní léčbu 5-FU, ukázala jasný vztah mezi dosaženými plazmatickými koncentracemi 5-FU, toxicitou a účinností léčby u pacientů s pokročilým adenokarcinomem tlustého střeva (13, 14, 15, 16, 17, 18). Tento vztah pak poukazuje na užitečnost farmakokineticky řízené léčby 5-FU.

Pacienti a metody

Protokol klinické studie. Charakteristiky nemocných a způsob léčby

Do otevřené prospektivní studie byli zařazeni nemocní léčení neoadjuvantní CRT na Klinice onkologie a radioterapie, Fakultní nemocnice Hradec Králové (FNHK), v období mezi lednem 2009 a prosincem 2011 (tabulka 1). Operace byla provedena na Chirurgické klinice FNHK. Protokol studie byl schválen Etickou komisí FNHK a SUKL. Všichni pacienti podepsali informovaný souhlas před vstupem do studie. Kritériem pro zařazení byl lokálně pokročilý, histologicky potvrzený adenokarcinom střední a distální části konečníku T2–4, N0–2, M0 u dříve onkologicky neléčených nemocných, výjimkou byl pouze spinocelulární

karcinom kůže. Radioterapie byla vedena 10–15 MV paprsky fotonů o dávkové intenzitě 1,8 Gy/frakci do celkové dávky 50,4 Gy ve 28 frakcích za 5 dní v týdnu. Dávky byly podávány v souladu s pravidly International Commission on Radiation Units and Measurements reference point.

Individuální úprava dávkování 5-FU

Klinická studie nejprve hodnotila nemocné léčené konvenční dávkou 5-FU 200 mg/m²/24 h. Začátkem 2. týdne pak byla rychlost dávkování 5-FU upravena podle jednotlivých farmakokinetických charakteristik léčiva a toxicity léčby. Prvním cílem bylo dosažení cílové plazmatické koncentrace 5-FU v ustáleném stavu 150 mg/L nebo AUC_{1–5den} = 18 mg.h/L (expozice 5-FU vyvolaná 5denní léčbou), nebo ekvivalent AUC_{1–7den} = 25 mg.h/L (7 denní léčba 5-FU). Tato cílová expozice 5-FU byla odvozena od hraniční hodnoty AUC 5-FU používané v adjuvantní 5denní CHRT, jejíž překročení je spojeno s vysokým rizikem leukopenie, rozvoje průjmu a mukozitidy (19, 20, 21). Druhým cílem bylo zabránit klinicky významné toxicitě ve sledovaných parametrech (stupeň > 2). K dosažení dostatečné expozice léčivu bylo nakonec voleno dávkové rozmezí 5-FU 200–1000 mg/m²/24 h ve formě kontinuální i. v. infuze po dobu 4–5 týdnů (22, 23) přes implantovaný port-katétr do krční nebo subclavia, aby chemoterapie mohla být aplikována v domácím prostředí. Chirurgická resekce s kurativním záměrem, tj. úplná mezorektální excize tumoru nebo amputace konečníku proběhla 4–6 týdnů po ukončení CHRT a klinickém restagingu (11, 24).

Přípravná fáze

Všichni nemocní podstoupili kompletní klinické vyšetření včetně anamnézy, fyzikálního vyšetření, zahrnujícího digitální vyšetření rekta, dále transrektální rektoskopii s biopsií, koloskopií, CT vyšetření hrudníku, břicha a pánve (24, 25). Vzdálenost nádoru od análního okraje byla hodnocena během rektoskopického vyšetření. Hodnocení rozsahu tumoru (T) byla definována transrektálním ultrazvukem a doplněna MR vyšetřením rekta. Každá viditelná lymfatická uzlina transrektálním ultrazvukem nebo CT vyšetřením byla klasifikována jako pozitivní (24, 25).

Hodnocení patologické odpovědi dle přítomnosti zbytkové nádorové choroby

Časná odpověď na neoadjuvantní CHRT, tj. perzistence (ve smyslu progresu, stability nebo regrese reziduální choroby), eventuálně absence nádoru byla hodnocena pomocí dosažení tzv.

downstagingu tumoru klinicky a definitivně pak z resekátu nádoru pomocí **histopatologického vyšetření a poměrem ypTypNM k TNM** podle tabulky 2.

Hodnocení klinického stadia před zahájením léčby (TNM), po jejím ukončení před resekci (ycTypNM) a hodnocení patologického rozsahu onemocnění po resekci (ypTypNM) bylo provedeno v souladu s pravidly TNM klasifikace UICC, 7. vydání z r. 2011. Downstaging tumoru byl definován srovnáním T a N rozsahu nádoru před neoadjuvantní léčbou a po ní před resekčním výkonem pomocí MR vyšetřením rekta (24, 25).

Histopatologické hodnocení bylo provedeno patologem pomocí pTpNM klasifikace (26). Cílem bylo dosažení absence reziduální nemoci (ypT0ypN0M0, tj. patologická kompletní odpověď, pCR), což je prediktivní faktor pro dosažení celkového přežití (overall survival, OS) během dalšího období, tj. 2–5 let po ukončení léčby (24).

Rozsah choroby před zahájením léčby, po jejím ukončení a během restagingu byl skórován body 0–12 (T0N0M0–T4N2M0; pT0pN0M0–pT4pN2M0), vždy podle stejných pravidel. Reziduální choroba byla hodnocena poměrem rozsahu postižení po ukončení léčby (tj. body odpovídajícími rozsahu popsaném cTcNM nebo ypTypNM škálou) k bodům odpovídajícím původnímu postižení (TNM) a poměr byl vyjádřen v%. Hodnocení rozsahu po skončení chemoradioterapie bylo prováděno jednak a) klinicky, tj. v časovém odstupu 1 měsíce klinicky (magnetickou rezonancí – cTcNM), obojí v bodech, reziduální choroba poměrem pak jako cTcNM0/TNM a výsledek v%, jednak b) patologicky, tj. za 6 týdnů po provedené chirurgické resekci tumoru (ypTypNM) – reziduální choroba v bodech poměrem pak jako cTcNM0/TNM a výsledek v%.

Odběr krve a stanovení koncentrace 5-FU v plazmě

Odběr krve. K odběru krve byl použit model omezeného počtu vzorků – limited sampling model (27). Každý týden proběhly celkem 2 odběry krve z kubitální žíly k hodnocení farmakokinetiky léčiva po dosažení ustáleného stavu; jeden odběr krve v den 1–2 (tj. za 24–48 hodin po zahájení kontinuální infuze), další vzorek v den 4–5 z kubitální žíly. Vzorek krve (7 ml plné krve) v injekční stříkačce s EDTA byl uchován při 4 °C a chráněn před světlem během přepravy do laboratoře. Vzorky plazmy byly centrifugovány 10 min, při 4 °C za rychlosti 1000 g a uloženy po dobu maximálně 14 dnů v polypropylenových eppendorfkách při -80 °C k analýze pomocí metody HPLC.

Tabulka 2. Reziduální choroba

Body	TNM – stupně	ycTycNM – po ukončení chemoradioterapie	ypTypNM – z resekátu po ukončení chemoradioterapie a resekci *
0	-	cT0cN0M0**	ypT0ypN0M0**
1	-	cT1cN0M0	ypT1ypN0M0
2	-	cT1cN1M0	ypT1ypN1M0
3	-	cT1cN2M0	ypT1ypN2M0
4	T2N0M0	cT2cN0M0	ypT2ypN0M0
5	T2N1M0	cT2cN1M0	ypT2ypN1M0
6	T2N2M0	cT2cN2M0	ypT2ypN2M0
7	T3N0M0	cT3cN0M0	ypT3ypN0M0
8	T3N1M0	cT3cN1M0	ypT3ypN1M0
9	T3N2M0	cT3cN2M0	ypT3ypN2M0
10	T4N0M0	cT4cN0M0	ypT4ypN0M0
11	T4N1M0	cT4cN1M0	ypT4ypN1M0
12	T4N2M0	cT4cN2M0	ypT4ypN2M0

* patolog z resekátu určuje ypT a ypN rozsah (tj. postižení tkáně rekta a spádových lymfatických uzlin, neurčuje rozsah choroby ve smyslu postižení vzdálených metastáz); ** úplné vymizení choroby (klinická nebo patologická kompletní odpověď, tj. ycT0ycN0M0 nebo ypTypNM0)

Legenda k tabulce II:

Rozsah choroby před zahájením léčby a po jejím ukončení a restagingu byl skórován body 0–12, vždy podle stejných pravidel. Reziduální choroba byla hodnocena poměrem rozsahu postižení po ukončení léčby (tj. body odpovídající rozsahu popsáném cTcNM nebo ypTypNM škálou) k bodům odpovídajícím původnímu postižení (TNM) a poměr byl vyjádřen v %.

Hodnocení rozsahu po skončení chemoradioterapie bylo prováděno:

- a) klinicky, tj. v časovém odstupu 1 měsíce klinicky (magnetickou rezonancí – cTcNM), obojí v bodech, reziduální choroba poměrem pak jako cTcNM0/TNM a výsledek v %
b) patologicky, tj. za 6 týdnů po provedené chirurgické resekci tumoru (ypTypNM) – reziduální choroba v bodech poměrem pak jako cTcNM0/TNM a výsledek v %.

Tabulka 3. Nehematologická toxicita neoadjuvantní CRT s 5-fluorouracilem podávaným kontinuálně konkomitantě v i. v. infuzi 4–5 týdnů u nemocných (N = 34) ozařovaných pro karcinom rekta podle CTCAE kritérií (Common Terminology Criteria for Adverse Events, version 3.0)

Stupeň toxicity (0–5)	0	1	2	3	4	5
Četnost n (%)						
Stomatitis (1–4) 1(3)	-	-	-	-	1 (3)	-
Diarrhea (0–6) 33 (97)	1 (3)	7 (21)	12 (35)	4 (12)	4 (12)	5 (15)
Enterocolitis (1–4) 1 (3)	-	-	-	-	-	1 (3)
Kožní toxicita (0–4) 34 (100)	1 (3)	4 (12)	16 (47)	11 (32)	2 (6)	-
Lokální bolest (1–10) 34 (100)	1 (3)	2 (6)	6 (18)	5 (15)	6 (18)	14 (30)
Hand-foot syndrom (1–4) 1 (3)	-	1 (3)	-	-	-	-
Pokles tělesné hmotnosti (0–5 kg) 33 (97)	0 15 (44)	-1 3 (9)	-2 8 (24)	-3 1 (3)	-4 4 (12)	-5 2 (6)
Elevace AST 8 (24)	-	8 (24)	-	-	-	-
Elevace ALT 5 (15)	-	5 (15)	-	-	-	-

Genetické vyšetření. DNA byla izolována z kódovalých vzorků krve a uložena při teplotě -80 °C. Polymorfizmy v genu MTHFR C677T a A1298C, MDR1 G2677T a C3435T byly vyšetřovány pomocí PCR-RFLP metody (PCR-RFLP; 28, 29). DPYD polymorfismus byl hodnocen pomocí StripAssaye (ViennaLab, AT). Distribuce MDR1 polymorfismů byla porovnána s nalezenými daty v historické kontrolní skupině, která vznikla z náhodně vybraného vzorku 189 zdravých dobrovolníků české populace (29). Genotyp pro každý polymorfismus byl testován Hardy-

Weinbergovým testem a rozdíly v očekávané a pozorované frekvenci byly testovány Pearson chí-kvadrátovým testem.

Farmakokinetika. Statistické vyhodnocení. Celková clearance byla vypočtena jako rychlost infuze dělená hodnotou plazmatické koncentrace 5-FU v ustáleném stavu. Plocha pod křivkou plazmatické koncentrace 5-FU (AUC) byla vypočtena jako hodnota koncentrace v ustáleném stavu násobená trváním infuze (168 hodin v každém týdnu léčby). AUC byla vypočtena jako součet AUC získaných během

čtyř nebo pěti týdnů terapie (v závislosti na době trvání terapie, tj. AUC0–28dní a AUC0–35 dní). Vliv týdne léčby na farmakokinetické a farmakodynamické charakteristiky byl hodnocen pomocí analýzy rozptylu pro opakované měření (ANOVA). V případě normálního rozložení dat byl použit parametrický Tukeyův test, pokud ne, pak neparametrický Kruskal-Wallisův a Dunnův test. Spearmanův korelační koeficient byl použit pro vyhodnocení korelace mezi proměnnými. Výpočty byly provedeny pomocí Prism GraphPad 5.00 pro Windows (GraphPad Software, San Diego, Kalifornie, USA).

Výsledky

Charakteristiky nemocných

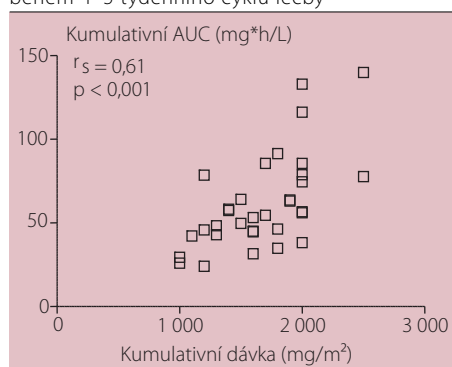
Mezi lednem 2009 a prosincem 2011 bylo do studie zařazeno celkem 39 pacientů (tabulka 1) a 34 pacientů dosahovalo všech požadavků protokolu studie. Během této doby přežilo 33 nemocných s výjimkou jednoho pacienta, který zemřel při progresi onemocnění 4 týdny po skončení CHRT. U zbylých pak za 4–6 týdnů po ukončení CHRT následoval operační výkon, a to kromě 3 pacientů, kteří podstoupili resekci nádoru o měsíc později z důvodu těžké slizniční toxicity, leukopenie a průjmu (tabulka 3). U 24 (78%) nemocných se jednalo o abdominoperineální resekci se zachováním svěrače pacientů (u 8 pacientů s přechodnou kolostomií), u 9 nemocných (27%) pak o amputaci rekta dle Milese.

Farmakokinetika/farmakodynamika 5-FU

Farmakokinetické parametry 5-FU. V týdnu 1–5 byly plazmatické koncentrace 5-FU, a tím i AUC0–168h, v korelaci s denní dávkou léčiva (mg/m²). Průměrná AUC0–168h 5-FU dosáhla průměr (SD) 11,7 (5,8) mg*h/L, 13,8 (5,5) mg*h/L, 16,2 (10,7) mg*h/L, a 15,1 (11,9) mg*h/L u pacientů léčených 5-FU kontinuálně týden 1–4. Stejně tak tato hodnota dosáhla 12,9 (6,1) mg*h/L, 13,1 (5,6) mg*h/L, 14,9 (9,6) mg*h/L, 13,1 (7,9) mg*h/L a 13,8 (7,8) mg*h/L u pacientů léčených 5-FU týden 1–5. AUC0–168h 5-FU nebyl závislý na pořadí právě probíhajícího týdne léčby a dosáhl 48–62% z odpovídající mezní hodnoty AUC spojené s toxicitou (19, 20, 21). Kumulativní dávka byla korelována s kumulativní AUC (AUC0–28dní a AUC0–35dní; obrázek 1a), a kumulativní AUC korelovala s reziduální nemocí (obrázek 1b). Metabolický poměr (5-FUH2/5-FU) také koreloval jak s kumulativní hodnotou AUC, tak mírou regrese onemocnění (obrázek 2a, b).

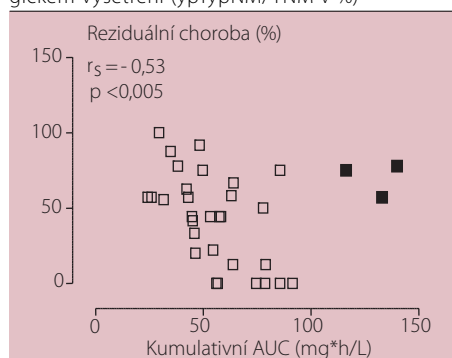
Genetické vyšetření a informace. Nebyl nalezen žádný statisticky významný rozdíl v distribuci alel DPD ve srovnání s Hardy-Weinberg ekvilibriem,

Obrázek 1a. Korelace mezi i. v. podanou kumulativní dávkou 5-FU (mg/m^2) a kumulativní AUC během 4–5 týdenního cyklu léčby



Byla nalezena signifikantní korelace mezi kumulativní dávkou 5-FU a kumulativní AUC léčiva ($r_s = 0,61$; $p < 0,001$).

Obrázek 1b. Korelace mezi kumulativní AUC 5-FU ($\text{nmol}\cdot\text{h}/\text{L}$) a reziduální chorobou po histopatologickém vyšetření (ypTypNM/TNM v %)



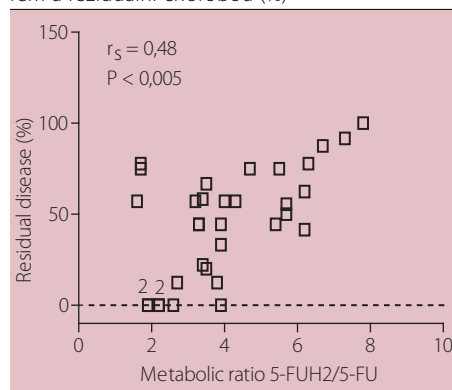
Byla nalezena signifikantní korelace mezi kumulativní AUC léčiva a velikostí reziduální choroby ($r_s = -0,53$; $p < 0,005$). Reziduální choroba po ukončené předoperační chemoradioterapii (%) klesá s velikostí kumulativní AUC 5-FU. Avšak tři černé body označují nemocné s naopak nadměrnou expozicí 5-FU (nadměrná AUC), komplikovaná těžkou postiradiační reakcí s nutností oddálení resekce rektu (více než 2 měsíce po ukončení neoadjuvantní chemoradioterapie). Tito tři jedinci s odlehlými body byli vyloučeni z korelační analýzy.

MDR1 polymorfismy byly také podobně distribuované na historické kontrolní skupiny, ačkoli tam byla tendence na nižší frekvenci CC3435 homozygotních jedinců ve srovnání se zdravými kontrolami, ale rozdíl nedosahoval úrovně statistické významnosti (Chi-kvadrát = 3,75, $p = 0,15$). Nicméně, pozorovaná četnost homozygotů CC3435 v této studii byla přibližně 40% pod dolní 95% CI mez respektována četnost v kontrolní skupině.

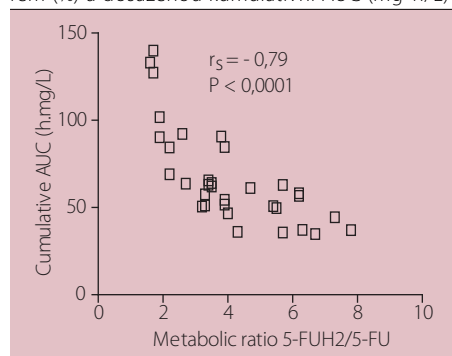
Efekt léčby

Celkem 34 pacientů dokončilo CHRT, a to 23/34 (68%) 5 týdnů a 11/34 (32%) 4 týdny. 29/34 (85%) pacientů reagovalo na CHRT příznivě, 8 pacientů (24%) patologickou kompletní remisi, přičemž v tomto případě dosáhlo AUC kumulativní hodnoty 50–100 $\text{mg}\cdot\text{h}/\text{L}$ (obrázek

Obrázek 2a. Korelace mezi metabolickým poměrem a reziduální chorobou (%)



Obrázek 2b. Korelace mezi metabolickým poměrem (%) a dosaženou kumulativní AUC ($\text{mg}\cdot\text{h}/\text{L}$)



1a, 1b, 2a, 2b). Sedm pacientů (21%) se srovnatelnou expozicí 5-FU dosáhlo částečnou patologickou odpověď. Tři pacienti s vyšší expozicí (kumulativní AUC > 100 $\text{mg}\cdot\text{h}/\text{L}$), u kterých bylo nezbytné odložit chirurgický zákrok o více než 2 měsíce od ukončení léčby, nedosáhli kompletní patologickou odpověď, i když se tak zdálo z výsledků zobrazovacích metod (ycTyc-NM). Pacienti s nízkou kumulativní expozicí 5-FU (AUC < 50 $\text{mg}\cdot\text{h}/\text{L}$) byli vystaveni vysokému riziku terapeutického neúspěchu.

Toxicita

U všech nemocných byla hodnocena toxicita léčby. Hematologická toxicita byla vzácná. Neutropenie stupně 3 ze 4 byla pozorována u jednoho nemocného po podání kontinuálního 5-FU ve vysoké dávce (> 600 mg/m^2), anémie 1. stupně ze 2 byla diagnostikována u 15 pacientů (44%), trombocytopenie se ve sledovaném souboru nevyskytla. Většina z ne-hematologické toxicity dosáhla stupně 2 (tabulka 3). U jednoho nemocného dosáhla stomatitida 3. z 5 stupňů a enterokolitida 4. z 5 stupňů, což si vynutilo léčbu i. v. metronidazolem v dávce 500 mg každých 6 hodin po dobu 10 dnů. 9 pacientů, kteří trpěli průjmem 4. stupně, z 5 bylo léčeno loperamidem 6–12 mg denně perorálně. Stupeň gastrointestinální a kožní toxicity spolu s lokální bolestí se postupně

zvyšuje s přibývajícím týdnem CHRT, zatímco aktivita transamináz klesá a roste koncentrace hemoglobinu v krvi. Toxicita léčby byla u všech pacientů plně reverzibilní.

Diskuze

Intenzita dávky je důležitým prediktorem výsledku pro celou řadu různých typů nádorů. Nemocní léčení nedostatečnou dávkou cytostatika mohou být znevýhodněni (14). Lineární vztah mezi efektem léčby a plazmatickou koncentrací léčiva (tím i AUC, tj. mírou expozice léku) u cytostatik agens s úzkým terapeutickým indexem umožňuje stanovit rozmezí terapeutických nebo toxických koncentrací léčiva v plazmě. V důsledku toho může být vyvinut model predikce individuálního dávkování pomocí jednotlivých farmakokinetických parametrů léčiva. Tato studie, zaměřená na neoadjuvantní CRT na bázi 5-FU, směřuje k takovému přístupu.

Studie se opírá o kontinuální i. v. infuzi 5-FU. Tento způsob podání léčiva se ukázal jako efektivnější než jeho bolusové podávání u několika malignit (30, 31). Navíc, vzhledem k velmi krátkému poločasu eliminace 5-FU (tj. 10–15 min) je kontinuální expozice důležitým faktorem pro zajištění trvalého cytotoxického účinku (32, 33). K popisu downstagingu jsme používali TNM klasifikaci, protože tyto hodnoty jsou považovány za významné prognostické faktory u pacientů s rakovinou konečníku fáze III, a proto může být vzata v úvahu při stanovení optimálního režimu chemoterapie. (34). Dosažení kompletní patologické odpovědi koreluje s celkovým přežíváním nemocných s lokálně pokročilým karcinomem rekta, kteří podstoupili neoadjuvantní CHRT (24).

V souladu s literaturou (30, 35) jsme zjistili významný lineární vztah mezi dávkou 5-FU, plazmatickou koncentrací 5-FU a AUC. To znamená, že v naší použité dávce 5-FU existuje lineární farmakokinetika léčiva. Kromě toho existuje významná korelace mezi kumulativní AUC a zbytkovou nemocí. Plazmatické koncentrace 5-FU a AUC se proto zdají být příslušnými farmakokinetickými parametry 5-FU, které jsou prediktivní pro odpověď nádoru na neoadjuvantní chemoterapii založenou na konkomitantním podávání 5-FU. V souladu s ostatními (18, 36) tato studie potvrzuje vysokou intraindividuální a interindividuální variabilitu v clearanci 5-FU. Pro klinickou praxi by proto mělo být hodnocení kinetiky 5-FU a expozice léčivu prováděno na začátku každého týdne léčby. V předchozích studiích bylo prokázáno, že starší pacienti (nad 60 let), ženy a nemocní trpící jaterní cirhózou mají sníženou clearance 5-FU (13, 30). To je připisováno rozdílné aktivitě enzy-

mu dihydro-pyrimidin-dehydrogenázy (DPD), kterou je 5-FU metabolizován na neaktivní metabolit 5-fluoro-5, 6-dihydrouracil (5-FUH2) (18, 37). Metabolický poměr (5-FUH2/5-FU) odráží aktivitu enzymu DPD. Jeho prediktivní hodnota pro toxicitu 5-FU již byla poznána dříve (27). Tato studie ukazuje, že metabolický poměr může být prediktivní také pro dosažení kompletní patologické odpovědi. Genetické vyšetření pacientů zařazených do studie nepotvrdilo genetický polymorfismus v aktivitě DPD, který odkryl pomalé metabolizátory s vysokým rizikem toxicity. Velký rozsah 5-FU metabolických poměrů se proto zdá být generován ne-genetickými proměnnými, které by měly být identifikovány.

U 15 nemocných dosáhla kumulativní AUC rozmezí 50–100 mg*h/L. Pouze 8 z nich dosáhlo pCR. U 7 nemocných došlo k pouze částečné odpovědi na léčbu, tito se významně lišili nízkým metabolickým poměrem (< 1,8). Vystává tedy otázka, zda může neaktivní metabolit soutěžit s aktivovanými endogenními meziprodukty 5-FU, odpovědnými za cytotoxické účinky. U 16 pacientů (47%) nedosáhla kumulativní AUC < 50 mg*h/L, ti nedosáhli pCR. Tři pacienti s velmi vysokou expozicí 5-FU (kumulativní AUC > 100 mg*h/L) v souladu s velmi nízkým metabolickým poměrem 5-FUH2/5-FU (< 1,8) byla ve finále odhalena nedostatečná patologická odpověď. Toto bylo připisováno prodlouženému intervalu mezi CHRT a chirurgickým výkonem, nutnému ke zotavení nemocného po těžké toxicitě. Nicméně hodnotíme data od pouze 3 nemocných. V literatuře je tento interval považován za faktor prediktivní pro pCR, ale i tam jsou některé protichůdné výsledky. Na rozdíl od našeho výsledku, Tulchinsky a Kalady (38, 39) ukázal, že interval > 8 týdnů má za následek vyšší stupeň dosažení pCR. V kontrastu, Stein (40) nepozoroval žádný významný rozdíl mezi dosažením pCR u pacientů operovaných za 4–8 týdnů po CHRT a po 10–14 týdnech.

Typ toxicity 5-FU je ovlivněn způsobem podávání, protože o kontinuální infuzi 5-FU je známo, že posunuje myelosupresi jako obvyklou limitující toxicitu ke stomatitidě a gastrointestinální toxicitě (31, 41). Závažnost toxicity 5-FU je určena genetickými a negenetickými faktory (42). U pacientů zařazených do této studie nebyl nalezen genetický polymorfismus DPD, TS a MTHFR. Nejdůležitějším faktorem pro negenetickou toxicitu bylo navýšení denní dávky v kontinuální infuzi 5-FU nad 600 mg/m².

Závěr

Oba 5-FU parametry, tj. kumulativní AUC a poměr 5-FUH2/5-FU jsou prediktivní pro veli-

kost reziduální nemoci lokálně pokročilého karcinomu rekta. Tento vztah může být rozhodující pro nastavení individuálního dávkování 5-FU v neoadjuvantní chemoradioterapii. Za předpokladu, že i. v. 5-FU kontinuální infuze se podává po dobu 4–5 týdnů s radioterapií, jak je popsáno výše, pak by denní dávka neměla překročit 350 mg/m² a kumulativní AUC 5-FU po skončení celé léčby by měla být > 50 mg*h/L.

Literatura

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58(2): 71–96.
2. Kuremsky JG, Tepper JE, McLeod HL. Biomarkers for response to neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 74(3): 673–688.
3. Habr-Gama A, Perez RO, Sabbaga J, Nadalin W, São Julião GP, Gama-Rodrigues J. Increasing the rates of complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy for distal rectal cancer: results of a prospective study using additional chemotherapy during the resting period. *Dis Colon Rectum* 2009; 52(12): 1927–1934.
4. Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, Martus P, Tschmelitsch J, Hager E, Hess CF, Karstens JH, Liersch T, Schmidberger H, Raab R; German Rectal Cancer Study Group. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(17): 1731–1740.
5. Gérard JP, Conroy T, Bonnetain F, Bouché O, Chapet O, Closon-Dejardin MT, Untchreiner M, Leduc B, Francois E, Maurel J, Seitz JF, Buecher B, Mackiewicz R, Ducreux M, Bedenne. Preoperative radiotherapy with or without concurrent fluorouracil and leucovorin in T3–4 rectal cancers: results of FFCD 9203. *J Clin Oncol* 2006; 24(28): 4620–4625.
6. Glynne-Jones R, Harrison M. Locally advanced rectal cancer: what is the evidence for induction chemoradiation? *Oncologist* 2007; 12(11): 1309–1318.
7. Lombardi R, Cuicchi D, Pinto C, Di Fabio F, Iacopino B, Neri S, Tardio ML, Ceccarelli C, Lecce F, Ugolini G, Pini S, Di Tullio P, Taffurelli M, Minni F, Martoni A, Cola B. Clinically-staged T3N0 rectal cancer: is preoperative chemoradiotherapy the optimal treatment? *Ann Surg Oncol* 2010; 17(3): 838–845.
8. Bosset JF, Calais G, Mineur L, Maingon P, Radosevic-Jelic L, Daban A, Bardet E, Beny A, Briffaux A, Collette L. Enhanced tumoricidal effect of chemotherapy with preoperative radiotherapy for rectal cancer: preliminary results-EORTC 22921. *J Clin Oncol* 2005; 23(24): 5620–5627.
9. Videtic GM, Fisher BJ, Perera FE, Bauman GS, Kocha WI, Taylor M, Vincent MD, Plewes EA, Engel CJ, Stitt LW. Preoperative radiation with concurrent 5-fluorouracil continuous infusion for locally advanced unresectable rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998; 42(2): 319–324.
10. de la Fuente SG, Manson RJ, Ludwig KA, Mantyh CR. Neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer reduces lymph node harvest in proctectomy specimens. *J Gastrointest Surg* 2009; 13(2): 269–274.
11. Janjan NA, Khoo VS, Abbruzzese J, Pazdur R, Dubrow R, Cleary KR, Allen PK, Lynch PM, Glover G, Wolff R, Rich TA, Skibber J. Tumor downstaging and sphincter preservation with preoperative chemoradiation in locally advanced rectal cancer: the M. D. Anderson Cancer Center experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 44(5): 1027–1038.
12. Hosein PJ, Rocha-Lima CM. Role of combined-modality therapy in the management of locally advanced rectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2008; 7(6): 369–375.
13. Zalberg J, Kerr D, Seymour L, Palmer M. Haematological and non-haematological toxicity after 5-fluorouracil and leucovorin in patients with advanced colorectal cancer is significantly associated with gender, increasing age and cycle number. *Tomudex International Study Group. Eur J Cancer* 1998; 34(12): 1871–1875.

14. Grem JL, Jordan E, Robson ME, Binder RA, Hamilton JM, Steinberg SM, Arbuck SG, Beveridge RA, Kales AN, Miller JA, et al. Phase II study of fluorouracil, leucovorin, and interferon alfa-2a in metastatic colorectal carcinoma. *J Clin Oncol* 1993; 11(9): 1737–1745.
15. Gamelin E, Boisdron-Celle M. Dose monitoring of 5-fluorouracil in patients with colorectal or head and neck cancerstatus of the art. *Crit Rev Oncol Hematol* 1999; 30(1): 71–79.
16. Gamelin E, Delva R, Jacob J, Merrouche Y, Raoul JL, Pezet D, Dorval E, Piot G, Morel A, Boisdron-Celle M. Individual fluorouracil dose adjustment based on pharmacokinetic follow-up compared with conventional dosage: results of a multicenter randomized trial of patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26(13): 2099–2105.
17. Young AM, Daryanani S, Kerr DJ. Can pharmacokinetic monitoring improve clinical use of fluorouracil? *Clin Pharmacokinet* 1999; 36(6): 391–398.
18. Di Paolo A, Lencioni M, Amatori F, Di Donato S, Bocci G, Orlandini C, Lastella M, Federici F, Iannopollo M, Falcone A, Ricci S, Del Tacca M, Danesi R. 5-fluorouracil pharmacokinetics predicts disease-free survival in patients administered adjuvant chemotherapy for colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14(9): 2749–2755.
19. Au JL, Rustum YM, Ledesma EJ, Mittelman A, Creaven PJ. Clinical pharmacological studies of concurrent infusion of 5-fluorouracil and thymidine in treatment of colorectal carcinomas. *Cancer Res* 1982; 42(7): 2930–2937.
20. Thyss A, Milano G, Renée N, Vallicioni J, Schneider M, Demard F. Clinical pharmacokinetic study of 5-FU in continuous 5-day infusions for head and neck cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1986; 16(1): 64–66.
21. Trump DL, Egorin MJ, Forrest A, Willson JK, Remick S, Tutsch KD. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of fluorouracil during 72-hour continuous infusion with and without dipyrindamole. *J Clin Oncol* 1991; 9(11): 2027–2035.
22. Beneton M, Chapet S, Blasco H, Giraudeau B, Boisdron-Celle M, Deporte-Fety R, Denis F, Narciso B, Calais G, Le Guellec C. Relationship between 5-fluorouracil exposure and outcome in patients receiving continuous venous infusion with or without concomitant radiotherapy. *Br J Clin Pharmacol* 2007; 64(5): 613–621.
23. Yang TS, Hsu KC, Wang HM, Lin YC. Phase II study of a weekly 8-hour 5-fluorouracil and leucovorin infusion for patients with advanced colorectal cancer: dose adjusted according to its toxicity. *Jpn J Clin Oncol* 2001; 31(12): 610–615.
24. Wittekind CH, Klimfänger M, Sobin LH. *Union Internationale Contre le Cancer*. Springer, Berlin, 2004: 5–38.
25. Eich HT, Stiepen A, Zimmermann C, Hellmich M, Metzger R, Hölscher A, Müller RP. Neoadjuvant radiochemotherapy and surgery for advanced rectal cancer: prognostic significance of tumor regression. *Strahlenther Onkol* 2011; 187(4): 225–230.
26. Junker K. Therapy-induced morphological changes in lung cancer. *Pathology* 2004; 25(6): 475–480.
27. Di Paolo A, Ibrahim T, Danesi R, Maltoni M, Vannozzi F, Flamini E, Zoli W, Amadori D, Del Tacca M. Relationship between plasma concentrations of 5-fluorouracil and 5-fluoro-5,6-dihydrouracil and toxicity of 5-fluorouracil infusions in cancer patients. *Ther Drug Monit* 2002; 24(5): 588–593.
28. Frost P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10(1): 111–113.
29. Pechandová K, Buzková H, Slanař O, Perlík F. Polymorphisms of the MDR1 gene in the Czech population. *Folia Biol (Praha)* 2006; 52: 184–9.
30. Ueno H, Okada S, Okusaka T, Ikeda M, Kuriyama H. Phase I and pharmacokinetic study of 5-fluorouracil administered by 5-day continuous infusion in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 49 (2): 155–60.

31. Lokich JJ, Ahlgren JD, Gullo JJ, Philips JA, Fryer JG. A prospective randomized comparison of continuous infusion fluorouracil with a conventional bolus schedule in metastatic colorectal carcinoma: a Mid-Atlantic Oncology Program Study. *J Clin Oncol* 1989; 7 (4): 425–32.
32. Takimoto CH, Yee LK, Venzon DJ, Schuler B, Grollman F, Chabuk C, Hamilton JM, Chen AP, Allegra CJ, Grem JL. High inter- and inpatient variation in 5-fluorouracil plasma concentrations during a prolonged drug infusion. *Clin Cancer Res* 1999; 5 (6): 1347–52.
33. Grem JL. 5-Fluoropyrimidines. In: Chabner BA, Longo DL (eds.), *Cancer Chemotherapy and Biotherapy*, Ed. 2, Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996: 149–211.
34. de Campos-Lobato LF, Stocchi L, da Luz Moreira A, Kalady MF, Geisler D, Dietz D, Lavery IC, Remzi FH, Fazio VW. Downstaging without complete pathologic response after neoadjuvant treatment improves cancer outcomes for cIII but not cII rectal cancers. *Ann Surg Oncol* 2010; 17 (7): 1758–66.
35. Erlichman C, Fine S, Elhakim T. Plasma pharmacokinetics of 5-FU given by continuous infusion with allopurinol. *Cancer Treat Rep* 1986; 70 (7): 903–4.
36. Etienne MC, Chatelut E, Pivot X, Lavit M, Pujol A, Canal P, Milano G. Co-variables influencing 5-fluorouracil clearance during continuous venous infusion. A NONMEM analysis. *Eur J Cancer* 1998; 34 (1): 92–7.
37. Milano G, Etienne MC, Pierrefite V, Barberi-Heyob M, Deporte-Fety R, Renée N. Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency and fluorouracil-related toxicity. *Br J Cancer* 1999; 79 (3–4): 627–30.
38. Tulchinsky H, Kashtan H, Rabau M, Wasserberg N. Evaluation of the NiTi Shape Memory BioDynamix ColonRing™ in colorectal anastomosis: first in human multi-center study. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25 (12): 1453–8.
39. Kalady MF, de Campos-Lobato LF, Stocchi L, Geisler DP, Dietz D, Lavery IC, Fazio VW. Predictive factors of pathologic complete response after neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer. *Ann Surg* 2009; 250 (4): 582–9.
40. Stein DE, Mahmoud NN, Anne PR, et al. Longer time interval between completion of neoadjuvant chemoradiation and surgical resection does not improve downstaging of rectal carcinoma. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 448–53.
41. Meta-analysis Group In Cancer. Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16 (1): 301–8.
42. Schwab CJ, Jones LR, Morrison H, Ryan SL, Yigittop H, Schouten JP, Harrison CJ. Evaluation of multiplex ligation-dependent probe amplification as a method for the detection of copy number abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2010; 49 (12): 1104–13.

Článek přijat redakcí: 29. 4. 2012

Článek přijat k publikaci: 21. 5. 2012

MUDr. Jiří Grim, Ph.D.

Ústav onkologie a radioterapie FN Hradec Králové
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
GrimJ@lfhk.cuni.cz
