

Vztah mezi kinetickými parametry 5-fluorouracilu a odpovědí na neoadjuvantní chemoradioterapii lokálně pokročilého adenokarcinomu rekta

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

¹Klinika onkologie a radioterapie, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

²Ústav farmakologie, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

Neoadjuvantní radioterapie kombinovaná s chemoterapií 5-fluorouracilem (5-FU) – chemoradioterapie (CHRT) – je považována za terapeutický standard pro lokálně pokročilý rektální karcinom (LPRK). Tato otevřená prospektivní studie získala data od 25 nemocných LPRK. Vycházela z jednotlivé dávky 1,8 Gy podávané ambulantně ve 28 frakcích, kombinované současným podáváním 5-FU v 7 denní kontinuální i.v. infuzi 200 až 1 000 mg/m².24h⁻¹. CHRT trvala 4–5 týdnů. Za dalších 4–6 týdnů po skončení CHRT následovala chirurgická resekce, na kterou v čase sepisování manuskriptu dosud čekali dva nemocní. Studie prokázala významnou korelaci mezi kumulativní plochou pod křivkou plazmatických koncentrací cytostatika (AUC) a reziduální chorobou. Regrese onemocnění jako odpověď na chemoradioterapii se dostavila u 19/23 nemocných (83 %), kompletní odpověď nebo remise onemocnění u 5/23 (21 %). Závažnost monitorovaných projevů toxicity – průjem, lokální bolest a perianální reakce na radioterapii – se zvyšovaly s počtem týdnů, zatímco aktivita ALT, AST a koncentrace hemoglobinu jevíly ve srovnání s hodnotami předcházejícími CHRT spíše pokles. Výsledky studie svědčí pro využitelnost kinetiky 5-FU (AUC) pro kineticky řízenou chemoterapii 5-FU s cílem dosáhnout vyšší efektivity a zároveň bezpečnosti CHRT.

Klíčová slova: neoadjuvantní chemoradioterapie, lokálně pokročilý rektální karcinom, 5-fluorouracil, kineticky řízené dávkování.

The relationship between kinetic parameters of 5-fluorouracil and the response to neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal adenocarcinoma

Neoadjuvant radiotherapy combined with chemotherapy with 5-fluorouracil (5-FU), i.e. chemoradiotherapy (ChRT), is considered a therapeutic standard for locally advanced rectal cancer (LARC). This open prospective study involved 25 patients with LARC who were administered 50.4 Gy in 28 fractions over 4 to 5 weeks in an ambulatory setting combined with concurrent 5-FU given as a 7-day continuous i.v. infusion at a dose of 200 to 1000 mg/m².24h⁻¹. Surgery was performed 4–6 weeks thereafter. At the time of writing this paper, two patients were still waiting for surgery. The outcome showed a significant correlation of the cumulative area under the curve of plasma concentration (cumulative AUC) with residual cancer. Cancer regression as a sign of the patient's response to ChRT was reached in 19/23 (83%) patients, while complete pathological remission was obtained in 5/23 patients (21%). Signs of toxicity, i.e. diarrhea, local pain and local reaction to radiotherapy, were increased, while ALT, AST activity and plasma hemoglobin concentration were slightly decreased with advanced cycles of ChRT compared to those prior to ChRT. These results may be useful for individual kinetically guided chemotherapy with 5-FU in order to achieve higher efficacy and safety of ChRT.

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

Klin Farmakol Farm 2011; 25(4): 161–166

Úvod

Lokálně pokročilý adenokarcinom rekta je jedním z častějších tumorů. Incidence se odhaduje na 22 případů/100 000 mužů a 16,4/100 000 žen (1). Průměrný věk u mužů se pohybuje v rozmezí 60–65 let, u žen 64–68 let.

Pro prognózu má zásadní význam včasná diagnóza, která umožňuje využít potenciální výhody neoadjuvantní (předoperační) chemoradioterapie (CHRT). Jak prokázaly prospektivní studie, CHRT předcházející chirurgickému výkonu redukuje rozsah onemocnění (downstaging) a zmenšuje objem (downsizing) tumoru, přičemž modifikuje histologickou charakteristiku, zlepšuje lokální podmínky, nicméně neprodlužuje významně dobu přežití (2, 3, 4, 5).

V neoadjuvantní CHRT je standardem léčba cytostatikem 5-fluorouracilem (5-FU) v monoterapii nebo v kombinaci s leukovorinem – zajišťujícím aditivní účinek metodou biochemické modulace. Odpověď na neoadjuvantní CHRT se hodnotí jako reziduální nádorové onemocnění pomocí histopatologického vyšetření a inspekce tumoru před léčbou a po léčbě. Recentně bylo dokázáno, že takto hodnocená reziduální odpověď v rozsahu od 0 do 10 % výchozí hodnoty vykazuje významně častější dvouleté přežití ve srovnání s nemocnými s >10 % reziduální odpovědí (p = 0,024) (1). Odpověď je determinována věkem nemocného. Nemocní mladší 65 let odpovídají častěji než jedinci starší (p = 0,036) (1).

Dosud chybí poznatek o tom, jaký význam pro odpověď na léčbu mají farmakokinetika 5-FU a jeho individuální kinetické parametry. Význam individuální hodnoty clearance 5-FU a celkové expozice cytostatiku (AUC-plocha pod křivkou) byl prokázán pro toxicitu chemoterapie adjuvantní – pooperační (6).

Získání prvotních poznatků o významu kinetiky 5-FU pro léčbu neoadjuvantní CHRT je cílem této pilotní otevřené studie. Kromě terapeutické odpovědi byla hodnocena toxikodynamika (incidence a závažnost toxických reakcí). Komplementárním bylo zjištění, zda byla dodržena 4–6 týdenní čekací doba na operační výkon od ukončení CHRT a jaký typ operace byl zvolen (amputace rekta nebo

nízká přední resekce, zda byla provedena pojištná kolostomie).

2. Studie a její popis, pacienti, metody

Prospektivní otevřená klinická studie

(Dále studie) byla provedena v období 01/2009–08/2011 na Klinice onkologie a radioterapie, Fakultní nemocnice v Hradci Králové. 5-FU byl stanovován na Ústavu farmakologie, Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové. Na tomto ústavu se rovněž prováděla statistická analýza výsledků. Protokol studie byl schválen dne 24. 01. 2008 Etickou komisí (EK) FN v Hradci Králové. Odchytky od Protokolu byly EK hlášeny průběžně.

Nemocní, demografická data

Do studie bylo zařazeno 25 nemocných s histologicky ověřeným lokálně pokročilým karcinomem rekta ve stadiu II a III dle UICC, 19 mužů (76%) ve věku $63,6 \pm 11$ let a 6 žen (24%) ve věku $64,5 \pm 5,5$ let. Mezi interkurentní choroby patřily arteriální hypertenze (12M a 6Ž, tj. 75%), ischemická choroba srdeční (3M, 1Ž, tj. 12,5%), diabetes mellitus 2. typu (6M a 3Ž, tj. 37,5%) a nádorové onemocnění v anamnéze (3M, 2x tumor prostaty, remise onemocnění, 1x spinocelulární karcinom na kůži obličeje, po operaci, bez známek dalšího postižení. 1Ž, spinocelulární karcinom v obličeji, po operaci, trvalá remise, tj. celkem 12,5%).

Popis studie

Nemocní podstoupili ambulantní neoadjuvantní (předoperační) chemoradioterapii (CHRT).

Radioterapie byla prováděna na lineárním urychlovači 10–15 MV a dávkována jednotlivou dávkou 1,8 Gy do celkové dávky 50,4 Gy ve 28 frakcích během 5 týdnů a tří dnů. Nemocní byli ozařováni v pronační poloze s fixací k podložce v místě břicha. Dávky byly standardizovány dle referenčních mezí doporučených International Commission on Radiation Units and Measurements. 95% plánovaného cílového objemu (planning target volume; PTV) bylo zavazato do nejméně 95% isodózy u všech nemocných. Ozařování bylo prováděno ze tří polí, každé bylo individuálně konfigurováno s použitím multileaf kolimátorů (multileaf collimators; MLC). Plánování radiační léčby se opíralo o 3D techniky.

Chemoterapie byla zajištěna monoterapií 5-FU podávaným i.v. infuzí implantovaným port-katétrem do v. jugularis nebo v. subclavia kontinuálně 7 dní po dobu následných 4–5 týdnů. Infuze byla dodávána infuzní pumpou chráněnou před světlem, fungující nepřetržitě po dobu

jednoho týdne. Dávky byly eskalovány od 200 do 1 000 mg/m²/24h. Kritériem pro individuální úpravu dávkování byla plazmatická koncentrace (Cpl) mateřské látky v ustáleném stavu (zejména byla-li nestanovitelná v případě dávek nízkých) a projevy toxicity, popsané pro léčbu adjuvantní – postoperační (6). Toxicita byla považována za akceptabilní v případě, že hodnocené příznaky nepřesahovaly polovinu hodnotící stupnice.

7 ml plné nesrážlivé krve (EDTA) ke stanovení plazmatické koncentrace 5-FU byly odebrány z kubitální žíly přímými vpichy 1–2krát týdně.

Hodnocení klinických dat

Předoperační rozsah onemocnění

Před zahájením CHRT a po jejím ukončení (před operací) byli nemocní vyšetřeni fyzikálně, včetně per rektum, posléze transrektální rektoskopií s biopsií, počítačovou tomografií (CT) břicha pánve a magnetickou rezonancí (MR). Výsledky byly vyhodnoceny podle stupnice TNM klasifikace. Stadium T bylo primárně definováno transrektálním ultrazvukem, později doplněno i vyšetřením MR. Každá viditelná lymfatická uzlina (N) během ultrazvukového vyšetření transrektálně, nebo metastáza (M) identifikovatelná pomocí vyšetření CT nebo MR byla hodnocena jako pozitivní nález. CT a MR vyšetření bylo opakováno u nemocných i pooperačně k ověření původního rozsahu onemocnění.

Typ operace a interval mezi ukončením CHRT a operací.

Typem operace byla standardně buď amputace rekta, nebo jeho nízká přední resekce s pojištnou kolostomií nebo bez ní. Čekací doba na operaci od ukončení CHRT představovala 4–6 týdnů.

Hodnocení efektivity léčby

K popisu rozsahu původního onemocnění a jeho změn po CHRT bylo použito systému klasifikace TNM, 7. vydání platné od r. 2009 (UICC International Union Against Cancer). V případě nemocných s adenokarcinomem rekta, indikovaných k neoadjuvantní CHRT, je nejnižší rozsah onemocnění T3N0M0, nejvyšší pak T4bN2M0 tj. stadium II a III. Po operačním výkonu je patologií hodnocena změna rozsahu onemocnění z resekátu tumoru, tj. regrese, ev. progresse choroby, či její stacionární stav (ypTypNM), a to za stejných pravidel platících pro TNM (7). Předpona „y“ znamená, že byla použita neoadjuvantní léčba, „p“, že se jedná o hodnocení resekátu patologií po operaci. U každého nemocného byl stanoven index ypTypNM/TNM, který určil míru reziduální choroby.

Analýza tolerability

Orgánová toxicita byla vyhodnocena pomocí anamnestických dat, podle fyzikálního a laboratorního vyšetření (aktivita AST, ALT, koncentrace hemoglobinu). V indikovaných případech také pomocí zobrazovacích metod – ultrazvuku břicha a nativního rtg snímku. Klinicky byla toxicita zaznamenána a podle stupnice CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events, version 3.0), kvantifikována frekvence průjmu (hodnoceno stupnicí 0–6), míra lokální bolesti (VAS 0–10) a rozsah i hloubka postiradiační reakce perianálně (0–4).

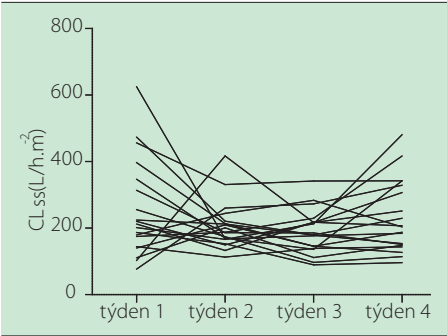
Stanovení 5-fluorouracilu

Stanovení 5-FU bylo prováděno na Ústavu farmakologie, Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové.

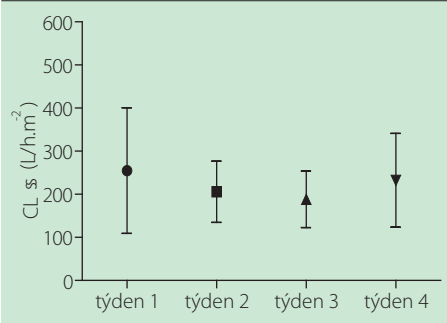
Pro terapeutické monitorování plazmatických koncentrací 5-fluorouracilu a neaktivního metabolitu dihydrofluorouracilu (5-FUH) byla vyvinuta a validována metoda kapalinové chromatografie. Vzhledem k povaze stanovovaných látek, které jsou si strukturně podobné, jsou velmi polární a nemají vhodný chromofor ani fluorofor, byl nutný vývoj metody stanovení s vhodnou kombinací úpravy vzorku a účinné chromatografické separace. Metoda je stručně popsána níže.

Příprava vzorku spočívá v izolaci plazmy z plné krve a jejím přečištěním extrakcí na SPE kolonkách Atoll XC 100/3 (8) s použitím 5-chlorouracilu jako vnitřního standardu (10 µg/ml, 60 µL + 1,5 ml plazmy) dle následujícího postupu: kolonky jsou nejprve promyty 2 ml acetonitrilu, 2 ml methanolu, 1 ml ultračisté vody a 1 ml fosfátového pufru (10 mM, pH = 2,0). Na takto kondicionované kolonky je naneseno 1,5 ml vzorku plazmy, která se nechá pouze gravitačně protéct kolonkami. V následném kroku jsou kolonky promyty 1 ml ammonium formátového pufru (10 mM, pH = 5,0). Eluce je prováděna do předem připravených skleněných zkumavek 0,5 ml činidla, tvořeného směsí methanol: acetonitril (80 : 20, v/v). Extrakty jsou po odpaření při 45 °C pod proudem dusíku rekonstituovány ve 200 µL 10 mM HCl a 100 µL je nastříknuto na kolonku. Při vývoji metody bylo testováno 9 stacionárních fází, nejlepších výsledků bylo dosaženo s kolonou Phenomenex Luna PFP (9) (150 x 4,6, 5 µm) v kombinaci s gradientovou elucí. Mobilní fáze A je tvořena ultračistou vodou pH = 2,5 (pH upraveno kyselinou sírovou). Mobilní fáze B je tvořena směsí methanolu a mobilní fáze A (50 : 50, v/v). Gradientová eluce je prováděna dle následujícího programu: 0,0–5,5 min 6% B, 5,5–15 min 6–50% B, 15–17 min 100% B, 17–20 min 6% B.

Obrázek 1a. Individuální hodnoty CLss



Obrázek 1b. Průměry CLss (SD)



Detekce je prováděna v UV oblasti při vlnové délce 210 nm (0–9,5 min) a 260 nm (9,5–20 min). Mimo výše uvedených látek je metoda schopna separovat i 5-fluorouridin a 5-fluoro-2-deoxyuridin. Metoda je lineární v rozsahu 25–800 ng/ml a 50–1 600 ng/ml pro 5-FU a 5-FUH. Mez stanovitelnosti činí 20 a 50 ng/ml pro 5-FU a 5-FUH. Metoda splňuje validační kritéria pro bioanalytické metody (9).

Farmakokinetické výpočty
Statistická analýza

Celková clearance 5-FU (CLss) byla získána jako poměr rychlosti infuze a ustálené koncentrace léčiva. Plocha pod křivkou plazmatických koncentrací 5-FU (AUC) byla v každém týdnu vypočítána jako součin ustálené koncentrace a celkové doby infuze v hodinách. Tento postup se opíral o skutečnost, že doba od zahájení infuze do ustálení plazmatické koncentrace je z důvodu krátkého biologického poločasu eliminace 5-FU velmi krátká ve srovnání s celkovou dobou infuze. Kumulativní AUC byla součtem hodnot AUC získaných ve všech čtyřech nebo pěti týdnech (pokud terapie neskončila po 4. týdnu). Vliv pořadí týdnu na hodnoty farmakokinetických a farmakodynamických proměnných byl testován analýzou rozptylu. Pokud byly splněny podmínky, byla použita parametrická analýza rozptylu a následný Tukeyův test. V opačném případě pak neparametrická analýza (Kruskal-Wallisův test) a Dunnův test. Korelace mezi proměnnými byla testována pomocí pořadového Spearmanova koeficientu. K výpočtům byl použit program GraphPad Prism verze 5.00 pro Windows (GraphPad Software, San Diego, Kalifornie, USA).

3. Výsledky
3.1. Chemoradioterapie a operace

3.1.1. Interval mezi ukončením CHRT a operací

V čase dokončení manu skriptu ještě dva nemocní čekali na operaci, protože čekací doba od ukončení CHRT k operativnímu zákroku ještě neuplynula. Naopak, u tří nemocných tento interval překročil dva měsíce (obrázek 3). Důvodem byly závažné toxické příznaky (mukositida). Čekací doba ostatních nemocných se pohybovala v rozmezí 4–6 týdnů.

3.1.2. Typ operace

Chirurgický výkon zachovávající funkci sfinkteru byl proveden u 21 nemocných. V jednom případě byla provedena amputace rekta. K pojistné kolostomii se přistoupilo u dvou nemocných. Kolostomie byla za další dva až tři měsíce zrušena. U jednoho nemocného došlo během standardní čekací doby ke generalizaci onemocnění do skeletu. Za 4 měsíce od zahájení CHRT nemocný zemřel.

3.2. Vliv pořadí jednotlivých týdnů léčby na celkovou clearance 5-FU v ustáleném stavu plazmatických koncentrací (CLss)

Byl hodnocen u nemocných léčených po dobu 4–5 týdnů dávkou 5-FN individuálně upravovanou i dávkou konstantní (během CHRT nebyl důvod k individuální úpravě rychlosti podávání). Ke kinetické analýze byla použita data získaná od nemocných, u kterých nechyběly plazmatické koncentrace ze žádného ze spojitých týdnů. Nemocných léčených po dobu kompletních 4 týdnů (1–4) bylo 19/25. Někteří z nich pokračovali v léčbě 5. týden (1–5), tj. 11/25 nemocných. Ostatní jedinci 6/25 byli také léčeni v průběhu 4–5 týdnů 5-FU (v závislosti na toxicitě), ale některé plazmatické koncentrace nebyly analyzovány (chyběl odběr krve, vzorek neměl potřebnou kvalitu aj.).

V průběhu 4týdenní léčby nemělo pořadí týdnů léčby významný vliv na CLss 5-FU (P = 0,17). Vysoké intraindividuální kolísání CLss odpovídalo v průměru 67 % interindividuální variability. Je možno konstatovat, že jednotlivé nemocné je možné jen obtížně charakterizovat jednou (průměrnou) hodnotou CLss v průběhu 4týdenní terapie, protože tato značně kolísá. Pak je nutné považovat za nepřesný ten postup, který by upravoval dávku v následujícím týdnu na základě hodnoty CLss zjištěné v týdnu předchozím. Doporučit je možno pouze monitorování ustálené koncentrace a vypočítat clearance na začátku každého týdne, a to zejména pokud se mění dávka.

Podobně tomu bylo u nemocných léčených 5-FU kompletními 5 cykly (1–5, n = 11). Ani v tomto případě nebyl shledán vliv pořadí týdne na CLss (P = 0,69). Intraindividuální kolísání CLss ve srovnání s interindividuální variabilitou je však nižší, v průměru odpovídá 30 % interindividuální variability. Interindividuální variabilita je statisticky významně vyšší (P < 0,05) než variabilita intraindividuální. Ve srovnání s předchozí analýzou 4týdenní léčby (n = 19) může být odlišný výsledek způsoben snížením počtu pacientů (n = 11). Alternativní vysvětlení: v této analýze převažují nemocní s konstantní dávkou (n = 7), u dvou nemocných došlo k velmi malé úpravě (300–350 mg v posledním týdnu a 300–400 mg po prvním týdnu).

Ovlivňuje změna dávky intraindividuální variabilitu clearance? U nemocných léčených 4týdenní léčbou (1–4, n = 9), avšak konstantní dávkou 5-FU je vliv pořadí týdnů hraničně signifikantní (P = 0,063). Intraindividuální kolísání CLss ve srovnání s interindividuální variabilitou je nižší, v průměru odpovídá 24 % interindividuální variability. Interindividuální variabilita je statisticky významně vyšší (P < 0,005) než variabilita intraindividuální. Počet nemocných je nízký, ale srovnání s analýzou 4týdenní léčby u všech 19 nemocných (s konstantními i upravovanými dávkami) ukazuje, že intraindividuální kolísání clearance je nižší a měnící se dávka by mohla vést k vyšší intraindividuální variabilitě clearance. Tuto

Tabulka 1. Dávkování 5-FU (mg/m²/24h)

	týden 1	týden 2	týden 3	týden 4	týden 5
N	25	25	25	24	16
Minimum	200	200	200	200	200
25 % percentil	200	300	300	312,5	300
Medián	300	400	400	400	400
75 % percentil	400	400	400	400	400
Maximum	400	500	700	1000	400
Průměr	314	362	394	415	356
SD	83,6	90,5	134	195	72,7
SEM	16,7	18,1	26,8	39,9	18,2

hypotézu formálně prokázala i analýza výsledků 4týdenní léčby provedená samostatně u 10 nemocných, u nichž došlo k úpravě dávky. V tomto případě byla intraindividuální variabilita clearance dokonce větší než variabilita interindividuální (o 120%, $P < 0,05$). Z tohoto zjištění vyplývá, že pokud nedochází k úpravě dávky, je možné s přijatelnou pravděpodobností počítat s nezměněnou clearance a AUC – tj. kumulativní expozicí 5-FU. Pokud je pro následující týden léčby navrhovaná úprava dávky, měla by být CLss a AUC zkontrolována novým vyšetřením ustálené plazmatické koncentrace 5-FU.

Tyto závěry je nutné přijímat s určitou opatrností, protože počty nemocných jsou nízké a rozdělováním na podskupiny dochází i ke změnám interindividuální variability.

3.3. Vztah mezi CLss a kovariáti dávkou, věk, pohlaví (analýza 1. týdne léčby)

Metodou vícenásobné lineární regrese nebyl prokázán vliv dávky, věku a pohlaví na hodnotu CLss ($L/h/m^2$). Statistická síla je ale nízká z důvodu nízkého celkového počtu pacientů ($N = 24$), nízkého zastoupení žen ($N = 5$), poměrně úzkého rozmezí věku (41–77 let) a dávek (200–400 mg/m^2). Analýza dat ze 4. týdne (dávky 200–1000 mg/m^2) poskytla stejný závěr.

3.4. Dávkování 5-FU, kumulativní dávka

Dávkování 5-FU v jednotlivých týdnech (tabulka 1).

Kumulativní AUC dobře korelovala s kumulativní dávkou ($r_s = 0,70$, $p < 0,0005$). Je patrné, že těsnost vztahu závisí na velikosti kumulativní dávky. Po vyšších kumulativních dávkách je variabilita hodnot kumulativní AUC vyšší. Nemocní byli proto rozděleni podle mediánu kumulativní dávky na skupiny s nízkou ($<$ medián) a vysokou kumulativní dávkou ($\geq$ medián). Ve skupině s nízkou kumulativní dávkou se hodnota AUC/kumulativní dávka, tj. kumulativní AUC přepočtená na kumulativní dávku 1 g/m^2 rovnala 5,3 $mg/l.h$ (SD 1,0; VK 19%). Ve skupině s vysokou kumulativní dávkou dosahovala 6,3 $mg/l.h$ (SD 3,3; VK 53%).

3.5. Závislost reziduální nemoci na kumulativní AUC 5-FU

Obrázek 3 ukazuje, že reziduální nemoc ubývá s nárůstem kumulativní AUC. Černé čtverečky značí tři nemocné s prodlevou mezi ukončením CHRT a operací $<$ dva měsíce. Prodleva byla způsobena těžkou mukosiditou po vyšší dávce 5-FU. Z tohoto důvodu nemocní nebyli do hodnocení reziduální nemoci zahrnuti.

Odpověď na CHRT. Regrese nádoru byla zjištěna u 19 z 23 nemocných (dva nemocní zatím nebyli operováni). Kompletní odpověď nebo remise byla dosažena u pěti nemocných vyznačujících se kumulativní AUC pro celou léčbu > 59 $mg/l.h$. Hodnoty AUC > 80 $mg/l.h$ byly u tří nemocných spojeny s nadměrnou mukosiditou.

3.6. Tolerabilita 5-FU

Je zjišťována u nemocných s lokálně pokročilým rektálním karcinomem léčených 5 týdenní neoadjuvantní chemoradioterapií, a to ve všech projevech podle neparametrické analýzy rozptylu pro opakovaná pozorování (Kruskal-Wallisův test).

3.6.1. Průměr (skóre 0–6, obrázek 4)

Průměrné hodnoty (SEM) vyjadřují závažnost průměru ($N = 14$).

Závažnost průměru se zhoršuje. Podle neparametrické analýzy rozptylu pro opakovaná pozorování (Kruskal-Wallisův test) je vliv faktoru

„týden“ významný ($P < 0,005$). Skóre ve 3., 4. a 5. týdnu se liší od skóre v 1. týdnu (Dunnův test, $P < 0,05$, resp. $< 0,001$). Nebyla však nalezena závislost závažnosti průměru na kumulativní expozici 5–5U (kumulativní AUC). $r_s = 0,34$, $p = 0,10$.

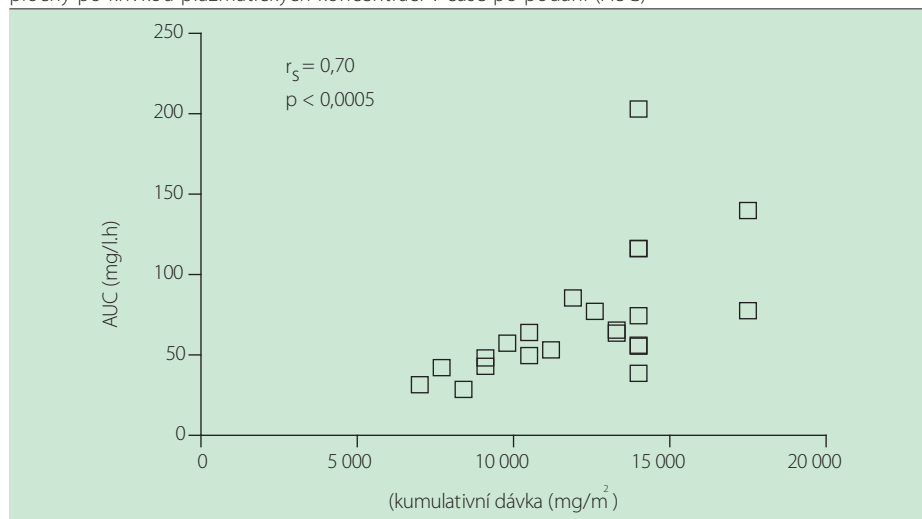
3.6.2. Míra lokální bolesti

I v těchto projevech je vliv faktoru „týden“ významný ($P < 0,0001$). Výsledky svědčí pro zvyšující se skóre bolesti. (VAS 0–10, $n = 14$). Nebyla však nalezena závislost intenzity bolesti na kumulativní expozici 5–5U (kumulativní AUC) $r_s = 0,30$, $p = 0,15$.

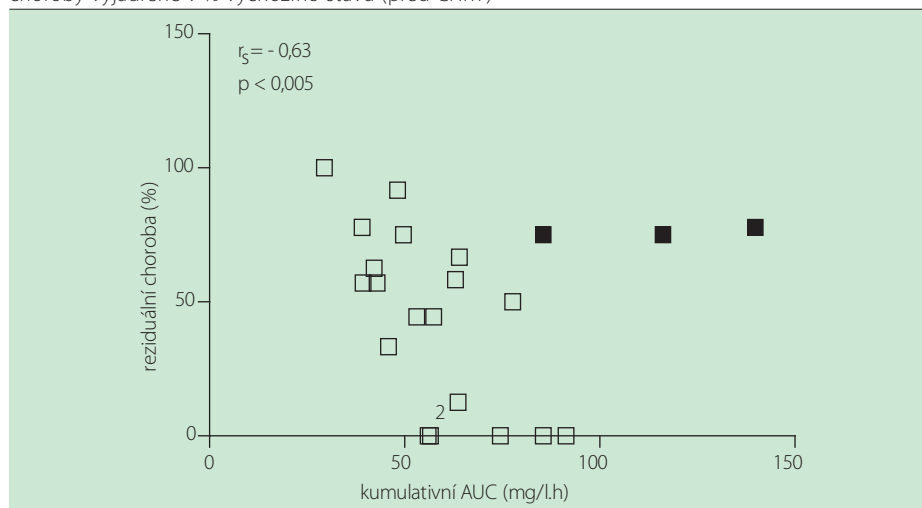
3.6.3. Závažnost postiradiační perianální reakce na radioterapii

Také reakce na radioterapii se s týdny léčby zvyšuje (skóre 0–4, $N = 14$), vliv faktoru „týden“ je opět významný ($P < 0,0001$). Ani v tomto případě nebyla nalezena závislost intenzity bolesti na kumulativní expozici 5-FU (kumulativní AUC) $r_s = 0,3$; $p = 0,10$.

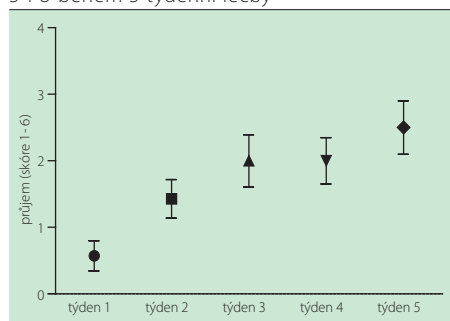
Obrázek 2. Korelace kumulativní dávky 5-FU v mg/m^2 podané za 4–5 týdnů a kumulativní hodnoty plochy po křivkou plazmatických koncentrací v čase po podání (AUC)



Obrázek 3. Korelace kumulativní AUC 5-FU za 4–5 týdnů chemoradioterapie (CHRT) a reziduální choroby vyjádřené v % výchozího stavu (před CHRT)



Obrázek 4. Průjem u nemocných, kteří užívali 5-FU během 5 týdenní léčby



3.6.4. Aktivita ALT a AST

Analýzou rozptylu pro opakované pozorování u nemocných s 5 týdenní léčbou ($N = 14$) nebyl zjištěn vliv pořadí týdne na aktivitu ALT ($P = 0,9$). Naopak u AST je rozdíl mezi aktivitou před léčbou a po 2. týdnu léčby (pokles) statisticky významný ($P < 0,05$).

3.6.5. Plazmatická koncentrace hemoglobinu

Shodnou analytickou metodou byl zjištěn vliv pořadí týdne léčby na koncentraci hemoglobinu ($P < 0,001$). Ve 3. a 4. týdnu byla nalezena významně nižší koncentrace než před léčbou (pro praxi rozdíl je malý): $13,3 \pm 1,35$ a $13,2 \pm 1,4$ g/L (3. a 4. týden) vs. $13,9 \pm 1,56$ g/L (před CHRT).

Ostatní projevy toxicity

Hand-foot syndrom se projevil u jediného nemocného, mukositida u tří nemocných.

Diskuze

Smyslem neoadjuvantní CHRT je regrese rozsahu onemocnění pro snadnější chirurgický výkon a nižší počet lokálních recidiv. V poslední době je také široce diskutována varianta dosažení tzv. kompletní odpovědi nebo remise, tj. prakticky úplné vymizení nádoru (ypT0ypN0M0) a její korelace s celkovým přežitím nemocných (1).

Přínos neoadjuvantní (preoperační) CHRT, ve srovnání s chemoterapií adjuvantní (postoperační), je spatřován v redukované toxicitě (10). Downstaging tumoru charakterizovaný poměrem tumorózní masy viabilních buněk a fibrotické tkáně a jmenovitě dosažení kompletní patologické remise jsou považovány za nejvýznamnější nezávislé prognostické faktory pro víceleté přežití (3, 11). Incidence kompletní odpovědi nebo remise je determinována dávkou 5-FU v kontinuální infuzi, dávkou radioterapie a aditivním vlivem dalšího léčiva (5). Také akutní orgánová toxicita – reakce na CHRT – se hodnotí jako časný prediktor kompletní nádorové

remise (12). Důležitou roli má nejspíše i časový předěl mezi ukončením CHRT a chirurgickou resekcí (5).

V této studii odpovědělo na neoadjuvantní CHRT 83 % nemocných s lokálně pokročilým rektálním karcinomem. Ke kompletní odpovědi nebo remisi dospělo 21 % nemocných, což je výsledek srovnatelný s předchozí studií (1). Pro krátkost času uplynulého od CHRT zatím nelze odhadnout prediktivní význam pro celkové přežití a vyjádřit se tak k předchozím údajům z literatury. Avšak novým poznatkem je význam kinetického parametru – kumulativní AUC – tj. celkové expozice 5-FU po dobu léčby – pro kompletní odpověď hodnocenou jako reziduální choroba. Jestliže celková clearance 5-FU jeví značnou variabilitu, zejména interindividuálního typu, pak kumulativní AUC by mohla být dalším nezávislým individuálním prediktorem odpovědi na léčbu a kineticky řízená farmakoterapie 5-FU by určovala individuální rychlost dávkování k dosažení žádoucí expozice 5-FU pro CHRT účinnější a bezpečnější. Tento požadavek by v praxi splnilo terapeutické monitorování (TDM), zejména pokud by se potvrdila snaha odhadnout limity kumulativní AUC jak k dosažení kompletní odpovědi nebo remise, tak pro prevenci toxicity.

Další otázkou je vliv patologických kovariátů, které se mohou podílet na volnější korelaci mezi kumulativní AUC a reziduální chorobou (obrázek 3). V úvahu připadají vlivy modifikující jak bioaktivaci cytostatika, tak jeho eliminaci. Komorbidit?

Toxicita CHRT, v této studii hodnocena prostřednictvím známých projevů – průjemy, bolest a zvýšená citlivost na radioterapii – se zvyšovala s počtem týdnů CHRT (1–5). Korelace s kumulativní AUC 5-FU se nepotvrdila. Mechanismem může být humorální, nebo funkční kumulace 5-FU, i když 5-FU je cytostatikum s krátkým biologickým poločasem eliminace ($t_{1/2} = 5–10$ min). V úvahu připadá také aditivní vliv s radioterapií. Je třeba připomenout, že zvláštností této studie bylo použití 7 denní kontinuální i.v. infuze 5-FU místo běžné infuze 5 denní. Snížení aktivity AST a také plazmatické koncentrace hemoglobinu, v této fázi nelze vysvětlit.

Jak již bylo zmíněno, akutní orgánová toxicita byla vyhodnocena jako prediktor celkového přežití (12). Na druhé straně závažnější toxické projevy mohou mít za následek prodlevu mezi ukončením CHRT a chirurgickou resekcí nádoru. Při hodnocení reziduální choroby měla prodleva u tří nemocných z této studie negativní vliv. Proto odhad výše expozice, která

by představovala limit pro prudce narůstající incidenci a závažnost projevů toxicity při lineárním vztahu mezi dávkou a plochou pod křivkou plazmatických koncentrací, který jsme zároveň prokázali, by měl nesporně velký praktický význam. Potvrzení této hypotézy vyžaduje kontrolovanou studii s několikanásobným počtem nemocných.

Můžeme uzavřít, že odpověď lokálně pokročilého karcinomu rekta na CHRT v níž je chemoterapie zajištěna 5-FU, a to 7denní kontinuální i.v. infuzí po dobu 4–5 týdnů, závisí na kumulativní AUC 5-FU. Projevy toxicity se zvyšují s počtem týdnů, ale na kumulativní AUC nezávisí. Předpokládáme, že k vyšší efektivitě i bezpečnosti CHRT nemocných s lokálně pokročilým karcinomem rekta by přispěla kineticky řízená chemoterapie 5-FU.

Tato studie je dedikována grantu IGA MZ pod kódem NS 9693–4.

Literatura

1. Eich HT, Stepien 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.
2. Bosset JF, Calais G, Mineur L, Maingon P, Radošević-Jelic L, Daban A, Bardet E, Beny A, Briffaux A, Collette L. Enhanced tumorocidal effect of chemotherapy with preoperative radiotherapy for rectal cancer: preliminary results--EORTC 22921. *J Clin Oncol.* 2005; 23(24): 5620–5627.
3. Capirci C, Valentini V, Cionini L, De Paoli A, Rodel C, Glynne-Jones R, Coco C, Romano M, Mantello G, Palazzi S, Mattia FO, Friso ML, Genovesi D, Vidali C, Gambacorta MA, Bufoli A, Lupattelli M, Favretto MS, La Torre G. Prognostic value of pathologic complete response after neoadjuvant therapy in locally advanced rectal cancer: long-term analysis of 566 ypCR patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008; 72(1): 99–107.
4. Gérard JP, Conroy T, Bonnetain F, Bouché O, Chapet O, Closon-Dejardin MT, Untereiner M, Leduc B, Francois E, Maurel J, Seitz JF, Buecher B, Mackiewicz R, Ducreux M, Bedenne L. 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.
5. Hartley A, Ho KF, McConkey C, Geh JI. Pathological complete response following pre-operative chemoradiotherapy in rectal cancer: analysis of phase II/III trials. *Br J Radiol.* 2005; 78(934): 934–938.
6. Bertino J, Gamelin E, Milano G. 5-Fluorouracil drug management: Pharmacokinetics and pharmacogenomics workshop meeting summary. *Clin Colorectal Cancer* 2007; 6(6): 407–422.
7. Shia J, Guillem JG, Moore HG, Tickoo SK, Qin J, Luo L, Suriawinata A, Paty PB, Minsky BD, Weiser MR, Temple LK, Wong WD, Klimstra DS. Patterns of morphologic alteration in residual rectal carcinoma following preoperative chemoradiation and their association with long-term outcome. *Am J Surg Pathol.* 2004; 28(2): 215–223.
8. Déporte R, Amiard M, Moreau A, Charbonnel C, Campion L. High-performance liquid chromatographic assay with UV detection for measurement of dihydrouracil/uracil ratio in plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2006; 834(1–2): 170–177.
9. Guidance for Industry – Bioanalytical method validation, Food and Drug Administration, 2001.

10. 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): 1731–1140.

11. Rödel C, Martus P, Papadoupolos T, Füzesi L, Klimpfinger M, Fietkau R, Liersch T, Hohenberger W, Raab R, Sauer R, Wittekind C. Prognostic significance of tumor regres-

sion after preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *J Clin Oncol.* 2005; 23(34): 8688–8696.

12. Wolff HA, Gaedcke J, Jung K, Hermann RM, Rothe H, Schirmer M, Liersch T, Herrmann MK, Hennies S, Rave-Fränk M, Hess CF, Christiansen H. High-grade acute organ toxicity during preoperative radiochemotherapy as positive predictor for complete histopathologic tumor regression in multimodal treatment of locally advanced rectal cancer. *Strahlenther Onkol.* 2010; 186(1): 30–35.

Článek přijat redakcí: 10. 10. 2011
Článek přijat k publikaci: 17. 11. 2011

MUDr. Jiří Grim, Ph.D.

*Klinika onkologie a radioterapie, Fakultní nemocnice,
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
grimj@lfhk.cuni.cz*
