

**Dagmara Buczek, Jacek Jassem**

Klinika Onkologii i Radioterapii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

# Indywidualizacja schematów chemioterapii zawierających 5-fluorouracyl u chorych na raka jelita grubego i nowotwory głowy i szyi: teoretyczne i praktyczne aspekty

Individualization of chemotherapy regimens including 5-fluorouracil in patients with colorectal cancer and head and neck cancer: theoretical and practical aspects

#### Adres do korespondencji:

Lek. Dagmara Buczek  
 Klinika Onkologii i Radioterapii  
 Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego  
 ul. Dębinki 7, 80-952 Gdańsk  
 Tel.: +48 (58) 349 22 71  
 Faks: +48 (58) 349 22 15  
 e-mail: buczek.dag@gmail.com

#### STRESZCZENIE

5-fluorouracyl (5-FU) jest fluoropirymidyną stosowaną w onkologii od późnych lat 50. XX wieku. Liczne obserwacje wskazują, że obecnie używana metoda obliczania należnej dawki tego leku na podstawie powierzchni ciała (BSA) nie pozwala ustalić jego optymalnego stężenia, zapewniającego najwyższą skuteczność przy możliwie najmniejszej toksyczności. Stężenie 5-FU w osoczu, przy jednakowej dawce obliczonej na podstawie BSA, może się różnić ponad 10-krotnie. Farmakokinetycznym wskaźnikiem najbardziej związanym z biologicznymi efektami leczenia 5-FU jest całkowite narażenie na lek lub pole pod krzywą (AUC) jego stężenia. Rozwój metod umożliwiających szybki i prosty pomiar stężenia 5-FU w osoczu i ocenę AUC pozwala obecnie na indywidualizację dawkowania tego leku.

**Słowa kluczowe:** 5-fluorouracyl, pole pod krzywą, rak jelita grubego, nowotwory głowy i szyi

#### ABSTRACT

5-fluorouracil (5-FU) is a fluoropyrimidine used in oncology since the late 1950s. Numerous observations indicate that the currently used method of calculating the dosage of this drug based on body surface area (BSA) does not allow for achieving its optimum concentrations ensuring maximum efficiency at the least possible toxicity. 5-FU concentrations in plasma at the same dose calculated on the basis of BSA can vary over 10-fold. Pharmacokinetic parameters best associated with the biological effects of treatment with 5-FU is the total drug exposure or the area under the curve (AUC) of its concentration. The development of methods enabling fast and simple measurement of 5-FU concentrations in plasma and AUC assessment allows currently for dose individualization of this compound.

**Key words:** 5-fluorouracil, area under curve, colorectal cancer, head and neck cancer

Onkol. Prak. Klin. 2012; 8, 6: 238–245

Onkologia w Praktyce Klinicznej  
 2012, tom 8, nr 6, 238–245  
 Copyright © 2012 Via Medica  
 ISSN 1734-3542  
 www.opk.viamedica.pl

## Wstęp

5-fluorouracyl (5-FU) należy do najczęściej wykorzystywanych leków cytotoksycznych. Najczęściej znaj-

duje on zastosowanie w uzupełniającym i paliatywnym leczeniu chorych na raka jelita grubego, w nowotworach głowy i szyi oraz w raku piersi. Przez wiele lat u chorych na raka jelita grubego 5-FU stosowano w monoterapii,

w krótkotrwałym wlewie dożylnym. W późniejszym okresie wykazano, że jego skuteczność jest większa po zastosowaniu leukoworyny, odgrywającej rolę biomodulatora. Poprawa ta jest wynikiem stabilizującego działania leukoworyny na trójskładnikowy kompleks — syntaza tymidylanowa-5FdUMP-CH2FH2, powstający w wyniku zahamowania przez metabolit 5-FU tego ważnego dla proliferacji komórek enzymu. Efektu tego nie obserwowano natomiast u chorych na nowotwory głowy i szyi. W ostatnich latach upowszechniło się podawanie 5-FU w ciągłym wlewie dożylnym, co pozwala zmniejszyć toksyczność leczenia. Obecnie u chorych na raka jelita grubego 5-FU stosuje się najczęściej jako składnik wielolekowych schematów zawierających dodatkowo oksaliplatynę lub irynotekan (FOLFOX, FOLFIRI). W tej grupie nowotworów chemioterapię kojarzy się także coraz częściej z lekami ukierunkowanymi molekularnie — inhibitorami angiogenezy (bewacyzumab) i inhibitorami receptora naskórkowego czynnika wzrostu (cetuksymab, panitumumab).

Od lat 70. ubiegłego wieku znana jest zależność toksyczności leczenia 5-FU od wysokich stężeń leku we krwi. Następnie wykazano, że stężenie 5-FU w osoczu silnie wiąże się zarówno z negatywnymi, jak i z pozytywnymi efektami biologicznymi (czyli odpowiednio z toksycznością i kliniczną skutecznością leczenia). Badania kliniczne przeprowadzone w ciągu ostatnich 20 lat doprowadziły do ustalenia pożądanego terapeutycznego zakresu stężeń 5-FU w osoczu oraz do opracowania algorytmów modyfikacji jego dawki, umożliwiających osiągnięcie i utrzymanie tego stężenia. Ponadto wykazano, że pożądaný terapeutyczny zakres stężeń 5-FU w osoczu nie jest związany ze sposobem podawania leku (wlew krótkotrwały czy ciągły), schematem leczenia (kilka godzin vs kilka dni) czy dodaniem innych leków przeciwnowotworowych.

Wydaje się, że monitorowanie stężenia 5-FU i ustalanie na tej podstawie jego dawki może zwiększać skuteczność leczenia, przy zachowaniu jego bezpieczeństwa. Zachęcająca wydaje się również optymalizacja dawkowania 5-FU w ramach nowych schematów wielolekowej chemioterapii (FOLFOX, FOLFIRI). W tym wypadku korzyść polega na zidentyfikowaniu czynnika odpowiedzialnego za toksyczne efekty leczenia, bez potrzeby zmniejszania dawek wszystkich leków danego schematu, a więc zmniejszania jego skuteczności.

Tradycyjnie farmakokinetykę 5-FU oceniano w warunkach klinicznych za pomocą fizycznych metod analitycznych, takich jak chromatografia cieczowa wysokiej jakości (HPLC, *high-performance liquid chromatography*) lub chromatografia cieczowa w połączeniu z tandemową spektroskopią masową (LC-MSMS, *liquid chromatography — tandem mass spectroscopy*). Te techniki są jednak czasochłonne i kosztowne, wymagają odpowiedniego przygotowania próbek i dużej doświadczenia, zatem

możliwość ich stosowania w codziennej praktyce klinicznej jest bardzo ograniczona.

W ostatnich latach opracowano względnie prosty test oparty na technikach immunohistochemicznych, pozwalający na szybkie określenie stężenia 5-FU w osoczu. Co ważne, wyniki testu są bardzo zbliżone do uzyskiwanych za pomocą standardowych metod fizycznych. Te cechy czynią go atrakcyjnym i przybliżają zastosowanie indywidualizacji leczenia 5-FU w praktyce klinicznej.

## Enzymy zaangażowane w metabolizm 5-fluorouracylu

W poszukiwaniach czynników warunkujących wyniki leczenia 5-FU szczególną uwagę zwrócono na dziedziczne cechy genetyczne. W jednym z badań u 76 chorych na zaawansowanego raka jelita grubego otrzymujących 5-FU z leukoworyną zbadano polimorfizm genów kodujących trzy enzymy zaangażowane w metabolizm 5-FU: dehydrogenazy dihydropyrimidynowej (DPD), syntazy tymidylanowej i reduktazy metylenotetrahydrofolianu [1]. Dehydrogenaza dihydropyrimidynowa rozkłada w organizmie do nieaktywnych metabolitów około 80–95% podawanej dawki 5-FU [2, 3]. Enzym ten jest obecny w wielu komórkach organizmu, głównie w wątrobie, nerkach, płucach i limfocytach [4], a jego niedobór powoduje zaburzenia metabolizmu i wydalania 5-FU, co objawia się znacznie większą toksycznością leczenia [3]. Aktywność DPD wykazuje duże międzyosobnicze różnice zależne od polimorficznej formy genu kodującego ten enzym; istnieje około 30 różnych form tego genu, dziedziczonych się autosomalnie kodominująco [1, 3]. Szacuje się, że częściowy niedobór DPD występuje u około 3–5% ludzi, a całkowity — u około 0,1% [1, 3–5]. Niedobór tego enzymu powoduje rodzinną pyrimidynurię (uracylurię). Zespół ten zwykle przebiega bezobjawowo, choć w nielicznych przypadkach może się objawiać upośledzeniem umysłowym, padaczką lub zespołem mózdkowym [4]. Wykrycie konkretnego polimorfizmu genu *DPD* nie pozwala zidentyfikować wszystkich chorych o wysokim ryzyku powikłań leczenia z użyciem 5-FU, ponieważ nawet u osób z normalną aktywnością DPD mogą występować nawet 20-krotne różnice w stężeniu leku. Jednocześnie aż u 50% chorych z podwyższonym stężeniem 5-FU nie stwierdza się żadnych zmian w genie *DPD* [1, 3].

Chorych z niedoborem DPD można zidentyfikować, stosując radioenzymatyczny test oceniający aktywność tego enzymu w limfocytach krwi obwodowej [4]. Test ten wykorzystuje zależność pomiędzy aktywnością DPD w mononuklearach krwi obwodowej a osoczymym kliresem 5-FU. Wadą tej metody jest jej złożoność, zwłaszcza w przypadku wykonywania testu u dużej liczby chorych, a także możliwość popełnienia błędów w przewidywaniu całkowitej aktywności DPD w organizmie na podstawie

oceny aktywności tego enzymu wyłącznie w limfocytach. Do oceny aktywności DPD proponowano też pomiar ilości tyminy i uracylu wydalanych przez nerki, wychodząc z założenia, że przy normalnej aktywności DPD te fluoropirymidyny nie powinny być obecne w moczu. Brak standaryzacji wykluczał jednak szerokie wykorzystanie tej metody [4].

Już w 1999 roku Gamelin i wsp. [4] wykazali zależność pomiędzy stężeniem w osoczu dihydrouracylu i uracylu (wskaźnik UH2/U) a aktywnością DPD. Zależność tę potwierdzono w badaniu dotyczącym polimorfizmu genów uczestniczących w metabolizmie 5-FU [1]. W badaniu tym wykazano także silną zależność pomiędzy obecnością polimorfizmu w zakresie pojedynczych nukleotydów (SNP, *single-nucleotide polymorphism*) genu *DPD* a toksycznością leczenia 5-FU. Na podstawie tych badań zaproponowano u chorych rozpoczynających leczenie fluoropirymidynami ocenę aktywności DPD przy użyciu genotypowania i fenotypowania, z późniejszym monitorowaniem stężenia 5-FU podczas leczenia. Do oceny genotypu *DPD* sugerowano wykorzystanie polimorfizmu SNP, a do fenotypowania — ocenę wskaźnika UH2/U, ocenę aktywności DPD w limfocytach i zastosowanie testowej dawki 5-FU [2]. Dalsze badania wykazały, że ocena aktywności DPD przed leczeniem 5-FU pozwala zmniejszyć jego toksyczność poprzez zmniejszenie początkowej dawki leku u chorych z niedoborem enzymu, przy monitorowaniu stężenia 5-FU w osoczu w trakcie leczenia [5]. Wyjątek stanowią chorzy z całkowitym niedoborem DPD, u których nie można stosować leczenia 5-FU, jednak zaburzenie to występuje u mniej niż 0,1% ludzi.

Syntaza tymidylanowa (*TS*, *thymidylate synthase*) jest docelowym enzymem dla 5-FU. W organizmie lek ten ulega przekształceniu do monofosforanu fluorodeoksyurydyny (FdUMP), który wiąże się z *TS* i kwasem 5,10-metylenotetrahydrofoliowym, kofaktorem tego enzymu, tworząc silny trójskładnikowy kompleks. W ten sposób zostaje zahamowana katalizowana przez *TS* reakcja konwersji monofosforanu deoksyurydyny (dUMP) do monofosforanu deoksytymidyny (dTMP). Prowadzi to z kolei do zahamowania proliferacji komórek na skutek zablokowania syntezy DNA, gdyż dTMP jest niezbędnym prekursorem jednego z czterech nukleotydów wchodzących w skład DNA — trójfosforanu deoksytymidyny (dTTP).

Wykazano, że znajdujący się na chromosomie 18. gen *TS* zawiera unikalne, składające się z 28 par zasad, sekwencje powtórzeń tandemowych (zwanymi „R”) w regionie promotora genu oraz w nieulegającym translacji regionie 5' [1]. Na tej podstawie stwierdzono występowanie u ludzi rasy białej trzech głównych genotypów *TS*: 3R/3R, 2R/2R i 2R/3R, w których wzmocnienie transkrypcji genu, jak i późniejsze wzmocnienie translacji mRNA rośnie wraz z liczbą takich powtórzeń.

W efekcie homozygoty 3R/3R wykazują wyższe stężenie białka *TS* w tkankach w porównaniu z homozygotami 2R/2R. W jednym z badań udział poszczególnych genotypów *TS* u 76 chorych na raka jelita grubego wynosił 18,4% dla 2R/2R, 30,3% dla 3R/3R i 51,3% dla 2R/3R [1]. Podobne wyniki uzyskano w innych badaniach klinicznych [6, 7]. Wykazano, że u chorych z genotypem 3R/3R genu *TS* odsetek odpowiedzi na 5-FU jest niższy nawet o połowę niż u chorych z pozostałymi genotypami [1]. Nie stwierdzono natomiast znamienych różnic w czasie całkowitego przeżycia wśród chorych z różnymi polimorficznymi postaciami genu *TS*, choć mediana czasu całkowitego przeżycia dla 3R/2R, 2R/2R i 3R/3R (odpowiednio 900, 669 i 270 dni) wykazywała duże numeryczne różnice. Najkrótszy czas przeżycia wykazano u chorych ze współistnieniem genotypu 3R/3R *TS* i genotypu C/C dla 667 C>T lub A/A dla 1298 A>C reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (*MTHFR*, *methylene tetrahydrofolate reductase*). Na tej podstawie zaproponowano ocenę polimorfizmu genów *TS* i *MTHFR* przed systemowym leczeniem chorych na raka jelita grubego i indywidualizację dawki. Kolejne badanie [5], w którym u chorych na raka jelita grubego stosowano pierwszą linię chemioterapii według schematu FOLFIRI, nie wykazało jednak wpływu współistnienia obu genotypów na skuteczność leczenia.

Polimorfizm genu *TS* oceniano także w kontekście toksyczności leczenia 5-FU. W jednym z badań wykazano, że 3. i 4. stopień toksyczności występuje znamienne częściej u homozygot 2R/2R niż u homozygot 3R/3R (odpowiednio 43% i 3%) [8]. Zależność tę potwierdzono w innym badaniu, choć współczynnik względnego ryzyka toksyczności leczenia 5-FU u homozygot 2R/2R w porównaniu z homozygotami 3R/3R wynosił tylko 1,6 [9].

## 5-fluorouracyl w nowotworach jelita grubego

Rozwojowi nowych schematów chemioterapii i zmian w sposobie ich stosowania u chorych na nowotwory jelita grubego towarzyszyły badania nad farmakokinetyką 5-FU. Wykazano, że farmakokinetycznym wskaźnikiem dla 5-FU związanym z biologicznymi efektami leczenia jest całkowite narażenie na lek lub pole pod krzywą (*AUC*, *area under the curve*) dla jego stężenia [4, 5, 10–12]. Najwięcej doniesień na temat modyfikacji schematów chemioterapii zawierających 5-FU we wlewie ciągłym na podstawie monitorowania stężenia leku w osoczu u chorych na raka jelita grubego pochodzi z ośrodka w Angers we Francji. Zwrócono uwagę, że *AUC* dla 5-FU jest silnie związane z toksycznością leczenia, niezależnie od sposobu podawania leku (wlew krótkotrwały lub ciągły; kilka godzin, dni lub tygodni podawania) [4]. Częstość leukopenii i zapalenia

**Tabela 1. Zależność pomiędzy AUC (area under the curve) a klinicznymi efektami leczenia z użyciem 5-FU****Table 1. The relationship between AUC (area under the curve) and the clinical effects of treatment with 5-FU**

Autor [piśm.]	Kraj	Rok	Efekt kliniczny
Hillcoat i wsp. [13]	Kanada	1978	Zależność pomiędzy AUC a odpowiedzią na leczenie
Au i wsp. [14]	USA	1982	Zależność pomiędzy AUC a toksycznością (mielosupresja)
van Groeningen i wsp. [15]	Holandia	1988	Zależność pomiędzy AUC a toksycznością (stopień 1.–4. powikłań wg WHO)
Yoshida i wsp. [16]	Japonia	1990	Zależność pomiędzy AUC a toksycznością (stopień 3. i 4. powikłań wg WHO)
Trump i wsp. [17]	USA	1991	Zależność pomiędzy AUC a toksycznością (zapalenie jamy ustnej i mielosupresja)
Gamelin i wsp. [18]	Francja	1998	Zależność pomiędzy AUC a toksycznością (biegunka, zespół dłoni i stóp) oraz odpowiedzią na leczenie i czasem przeżycia
Ychou i wsp. [10, 19]	Francja	1999, 2003	Zależność pomiędzy AUC a toksycznością (mielosupresja, biegunka, zespół dłoni i stóp)
Gamelin i wsp. [12]	Francja	2008	Zależność pomiędzy AUC a kliniczną skutecznością (odpowiedzią na leczenie, czasem do progresji, czasem przeżycia)
DiPaolo i wsp. [11]	Włochy	2008	Zależność pomiędzy AUC a czasem wolnym od nawrotu nowotworu

blon śluzowych jest jednak większa po krótkotrwałym wlewie, a biegunek i zespołu ręka–stopa (HFS, *hand-foot syndrome*) — po ciągłym wlewie dożylnym. Toksyczny efekt krótkotrwałego wlewu 5-FU wynika z wysokiego, ale trwającego krótko szczytu jego stężenia w osoczu, który doprowadza do wbudowywania się go do RNA. Z kolei ciągły dożylny wlew 5-FU powoduje większe zahamowanie TS, odpowiedzialne za kliniczną skuteczność leczenia. Wydaje się zatem, że monitorowanie stężenia 5-FU w osoczu w trakcie leczenia pozwoli na uniknięcie wysokiego stężenia leku i utrzymanie go na stałym poziomie. Liczne badania wykazały związek między AUC a odpowiedzią na leczenie 5-FU i jego toksycznością, niezależnie od tego, czy stosowano w nich 2-, 3- czy 5-dniowy wlew tego leku (tab. 1).

W badaniu II fazy oceniono skuteczność i toksyczność podawanego co 2 tygodnie schematu LV5FU2 u chorych na rozlanego raka jelita grubego [10]. W pierwszym cyklu dawki leków obliczano na podstawie powierzchni ciała (BSA, *body surface area*), natomiast w drugim modyfikowano je na podstawie AUC obliczonego podczas pierwszego cyklu. Stężenie 5-FU w osoczu mierzono za pomocą chromatografii cieczowej wysokiej jakości. U 87% chorych konieczne było zwiększenie dawki leku w celu osiągnięcia pożądanego stężenia 5-FU. U 53 leczonych w ten sposób chorych wskaźnik obiektywnych odpowiedzi wynosił 37%, mediana przeżycia wolnego od progresji — 7 miesięcy, a mediana czasu całkowitego przeżycia — 18,6 miesiąca. W grupie tej rzadziej także występowały, w porównaniu z obserwowanymi przy tra-

dycyjnym podawaniu 5-FU, ciężkie zdarzenia toksyczne, zwłaszcza neutropenia, biegunka i zespół ręka–stopa.

W badaniu obejmującym 5-dniowe podawanie 5-FU w krótkotrwałym wlewie w połączeniu z leukoworyną (leczenie pooperacyjne) stężenie 5-FU w osoczu oceniano przy użyciu chromatografii cieczowej wysokiej jakości w pierwszym dniu każdego cyklu [11]. Stwierdzono silną zależność pomiędzy AUC dla 5-FU a czasem przeżycia wolnego od nawrotu. Wpływ AUC na ryzyko nawrotu był porównywalny z efektem zajęcia przerzutami węzłów chłonnych, przerwą w chemioterapii lub zmniejszeniem dawek.

W wielośrodkowym badaniu III fazy z zastosowaniem LV/5-FU we wlewie ciągłym u chorych na rozlanego raka jelita grubego porównano standardowe dawkowanie na podstawie BSA z dawkowaniem opartym na monitorowaniu stężenia 5-FU we krwi [12]. W pierwszym cyklu chemioterapii wszyscy chorzy otrzymywali dawki 5-FU i leukoworyny obliczone na podstawie oceny BSA. Następnie chorzy w grupie leczonej konwencjonalnie kontynuowali chemioterapię zgodnie z tym schematem, natomiast w grupie badanej monitorowano stężenie leku w osoczu i modyfikowano jego dawkę na podstawie opracowanych przez tych samych badaczy algorytmów w celu uzyskania AUC w zakresie 20–25 mg·h/l. Dołowe stężenie 5-FU w surowicy uzyskiwano średnio po 3 cyklach chemioterapii. Ostatecznie u 17% chorych zmniejszono dawkę leku, 14% miało się w pożądanym zakresie AUC, natomiast aż u 68% konieczne było zwiększenie dawki w celu uzyskania optymalnego AUC.

Poza zespołem ręka–stopa wszystkie niepożądane działania leczenia, zwłaszcza biegunka w stopniu 3.–4., były rzadsze w ramieniu doświadczalnym. U chorych, którzy wymagali zwiększenia dawki leku w celu uzyskania docelowego AUC, nie stwierdzono nasilenia powikłań toksycznych w 3.–4. stopniu. Co najważniejsze jednak, w grupie z modyfikacją dawki wykazano znamienne wyższy odsetek całkowitych odpowiedzi na leczenie (34% w porównaniu z 18% w grupie kontrolnej,  $p = 0,0004$ ) oraz trend w kierunku wydłużenia czasu całkowitego przeżycia (mediana odpowiednio 22 miesiące vs 16 miesięcy,  $p = 0,08$ ). Wyniki te wskazują, że u znacznej części chorych na rozsiały raka jelita grubego w pierwszej linii chemioterapii wystarczające byłoby zastosowanie wyłącznie LV/5-FU z optymalizacją dawkowania 5-FU, natomiast pozostałe leki o udowodnionej skuteczności (oksalipatyna, irynotekan) można by zastosować w kolejnych liniach.

Przedmiotem ostatnich badań była ocena przydatności monitorowania 5-FU w ramach wielolekowych schematów chemioterapii (FOLFOX, FOLFIRI), w tym opracowanie algorytmu do indywidualizacji dawkowania 5-FU na podstawie pomiaru jego stężenia w osoczu. W badaniu II fazy chorych na rozsiały raka jelita grubego przydzielano losowo do chemioterapii pierwszej linii według schematu FOLFOX4 z monitorowaniem stężenia 5-FU lub z konwencjonalnym dawkowaniem tego leku w tym schemacie chemioterapii [20]. Wykazano, że około 80% chorych leczonych według tradycyjnego schematu nie otrzymało optymalnej dawki leku. Równocześnie biegunka, zapalenie błon śluzowych oraz neutropenia 3. i 4. stopnia w grupie z modulacją dawki wystąpiły u 1,7%, 0,8% i 18% chorych, w porównaniu z odpowiednio 12%, 15% i 25% chorych leczonych tradycyjnie. Co ważne, modulowanemu leczeniu towarzyszyło zwiększenie odsetka odpowiedzi (odpowiednio 69,5% i 46%), czasu do progresji (mediana 16 miesięcy i 10 miesięcy) i czasu całkowitego przeżycia (mediana 28 miesięcy i 22 miesiące). Skuteczność schematu FOLFOX z indywidualizacją dawkowania 5-FU była podobna do skuteczności skojarzenia tradycyjnego schematu z lekami celowanymi, przy niższym koszcie.

W innym badaniu, obejmującym 150 chorych na raka jelita grubego otrzymujących schemat FOLFOX w ramach pooperacyjnego lub paliatywnego leczenia, do pomiaru stężenia 5-FU i oceny AUC zastosowano nowe narzędzie — immunologiczny test „On Dose” [21]. Ocena AUC potwierdziła szeroką zmienność ekspozycji na 5-FU przy dawkowaniu na podstawie BSA oraz wykazała, że 53% chorych otrzymało zbyt niską dawkę 5-FU, 29% — zbyt wysoką, a tylko 19% chorych znalazło się w pożądanym przedziale terapeutycznym AUC w granicach 20–25 mg·h/l. Dodatkowo stwierdzono, że rozkład AUC dla 5-FU nie różnił się po dodaniu bewacyzumabu do schematu leczenia.

**Tabela 2. Algorytm modyfikacji dawki 5-FU w zależności od jego stężenia w osoczu, zaproponowany przez Kaldate i wsp. [22]**

**Table 2.** The algorithm to modify the dose of 5-FU, depending on its concentrations in plasma, proposed by Kaldate et al. [22]

AUC (mg·h/l) w poprzedzającym cyklu chemioterapii	Zmiana dawki [mg/m <sup>2</sup> ]
≥ 40	-727
37–39	-582
34–36	-436
31–33	-291
20–30	Bez zmiany dawki
17–19	+291
14–16	+436
11–13	+582
8–10	+727

W innym, większym badaniu, w którym stężenie 5-FU w osoczu podczas leczenia według schematu FOLFOX6 z bewacyzumabem oceniano przy użyciu testu „On Dose”, opracowano algorytm optymalizacji dawkowania 5-FU w celu osiągnięcia terapeutycznego zakresu AUC w granicach 20–30 mg·h/l (tab. 2). Zakres ten był szerszy w porównaniu z zastosowanym we wcześniejszych badaniach [12], co pozwoliło uniknąć zbyt częstych zmian dawkowania 5-FU. Ostatnio badacze ci przedstawili wyniki badania, w którym ocenili przy użyciu tej samej metody farmakokinetykę 5-FU u 927 chorych na raka jelita grubego. Okazało się, że przy stosowaniu 5-FU w dawce 2400 mg/m<sup>2</sup> w 44–48-godzinny wlew z udziałem lub bez udziału bewacyzumabu kobiety otrzymują częściej niż mężczyźni zbyt wysokie dawki 5-FU (odpowiednio 14,6% i 10%,  $p = 0,0083$ ), a młodzi chorzy częściej niż starsi chorzy otrzymują zbyt niskie dawki (56,2% vs 36,1%,  $p = 0,0002$ ) [23]. Duże badanie kliniczne z randomizacją pod nazwą PROFUSE (*PROspective 5-FluoroUracil OnDoSe Evaluation*; www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01468623?term=profuse&rank=1), oceniające wykorzystanie tego algorytmu w praktyce klinicznej, rozpoczęło się w Stanach Zjednoczonych w listopadzie 2011 roku.

## 5-fluorouracyl w nowotworach głowy i szyi

Istnieje niewiele danych na temat farmakokinetyki 5-FU i jej związku z toksycznością i skutecznością leczenia u chorych na nabłonkowe nowotwory głowy i szyi. W badaniu obejmującym 186 chorych na pła-

skonabłonkowego raka głowy i szyi, otrzymujących indukcyjną chemioterapię z udziałem cisplatyny w dawce 100 mg/m<sup>2</sup> w 1. dniu i 5-FU w 5-dniowym wlewie w dawce 1000 mg/m<sup>2</sup>/d., w 3. dniu leczenia modyfikowano dawkę 5-FU na podstawie oceny AUC podczas pierwszych 48 godzin wlewu [24]. Prawdopodobieństwo uzyskania odpowiedzi wiązało się z zaawansowaniem nowotworu i średnim AUC dla 5-FU/cykl, przy optymalnym AUC 29 mg·h/l. Nie wykazano natomiast takiej zależności dla średniej dawki 5-FU na cykl. Podobne zależności stwierdzono w odniesieniu do czasu całkowitego przeżycia. Wykazano ponadto, że nie tylko zachowanie AUC poniżej 30 mg·h/l zmniejsza toksyczność leczenia, ale również utrzymanie AUC powyżej pewnego poziomu zwiększa odsetek odpowiedzi i czas całkowitego przeżycia.

W innym badaniu 122 chorych na nabłonkowe nowotwory głowy i szyi przydzielono losowo do dwóch grup — jednej otrzymującej indukcyjną chemioterapię zawierającą 5-FU i cisplatynę w standardowych dawkach i drugiej — z optymalizacją dawkowania 5-FU na podstawie oceny AUC [25]. Neutropenia i trombocytopenia w stopniu 3.–4. (odpowiednio 17,5% i 7,6%) oraz zapalenie błon śluzowych (5,1% i 0%) były znamienne częstsze w grupie otrzymującej standardowe leczenie. Wskaźnik obiektywnych odpowiedzi był w obu grupach porównywalny (77% w ramieniu standardowym i 82% w ramieniu z dostosowywaniem dawki 5-FU). Badanie to potwierdziło, że w przeciwieństwie do chorych na raka jelita grubego, którzy najczęściej otrzymują zbyt niskie dawki 5-FU, większość chorych na nowotwory głowy i szyi wymaga zmniejszenia dawki leku na podstawie oceny jego stężenia w osoczu.

Ostatnio przedstawiono wyniki chińskiego badania, w którym u 53 chorych z rozpoznaniem raka nosowej części gardła zastosowano chemioterapię według schematu cisplatyna 80 mg/m<sup>2</sup> w 1. dniu oraz 5-FU 4000 mg/m<sup>2</sup> w 5-dniowym wlewie dożylnym [26]. Dawkę 5-FU optymalizowano na podstawie oceny stężenia leku przy użyciu immunotestu. Mimo mniejszych niż we wcześniejszych europejskich badaniach dawek cytostatyków i wyższego docelowego zakresu AUC (25–35 mg·h/l) uzyskano podobne wyniki. Potwierdzono wysoką zmienność stężenia 5-FU w badanej populacji i wykazano, że 51% chorych wymaga zmniejszenia dawki leku.

## Metody oceny stężenia 5-fluorouracylu we krwi

W połowie lat 60. ubiegłego wieku farmakokinetykę 5-FU oceniano za pomocą półilościowej metody opartej na hodowlach komórkowych. Dekadę później zastosowano w tym celu chromatografię gazowo-cieczową oraz chromatografię gazową ze spektrometrią masową. Następnie główną metodą oceny stężeń 5-FU w osoczu

stała się chromatografia cieczowa wysokiej jakości (HPLC), która pozostaje nadal „złotym standardem”. Równocześnie upowszechniła się nowa czuła i swoista technika — chromatografia cieczowa ze spektrometrią masową (LC-MSMS) [3, 27].

Pierwsze zalecenia dotyczące monitorowania stężeń 5-FU podczas leczenia pojawiły się już w latach 80. ubiegłego wieku, jednak ich wykorzystanie w praktyce klinicznej stało się bardziej realne dopiero po wprowadzeniu schematów leczenia zawierających długotrwały wlew 5-FU, w przypadku których do obliczenia AUC potrzebna jest tylko pojedyncza próbka krwi pobrana w stanie równowagi stężenia leku w osoczu. Niezależnie od tego, fizyczne metody wykorzystywane do oceny farmakokinetyki 5-FU są złożone, kosztowne i wymagają odpowiedniej aparatury. Kilka lat temu opracowano nowy immunologiczny test do oceny stężenia 5-FU w osoczu [3, 27]. Wykorzystuje on dwa odczynniki — multiwalentną pochodną 5-FU w buforze i przytwierdzone do podłoża, 200-nm cząstki związane z monoklonalnymi przeciwciałami, selektywnymi dla 5-FU. Po dodaniu próbki badanego osocza w powstałym roztworze mierzona jest absorpcja światła o długości fali 600 nm. Przy nieobecności leku we krwi nanocząsteczki aglutynują z pochodną 5-FU w roztworze i absorpcja światła wzrasta. Obecność 5-FU w badanej próbce, poprzez wiązanie się z nim przeciwciał, powoduje częściowe zahamowanie tej aglutynacji i zmniejszenie absorpcji światła. Pomiar zmian absorpcji światła w zależności od zmiany stężenia 5-FU w badanej próbce pozwala przedstawić wyniki w formie graficznej.

Stosowane w teście przeciwciała dla 5-FU wykazują zadowalającą ogólną reaktywność krzyżową, co umożliwia ich wykorzystanie w praktyce klinicznej [3, 27]. Proponuje się jednak ocenę próbki osocza za pomocą immunotestu jeszcze przed rozpoczęciem leczenia 5-FU, co ma pozwolić na wykrycie chorych z konstytutywnie podwyższonym stężeniem uracylu we krwi. Reakcja krzyżowa przeciwciał z lekami często stosowanymi w skojarzeniu z 5-FU, takimi jak leukoworyna, oksaliplatyna oraz irynotekan, wynosiła < 0,1% [27].

Zaletami immunotestu są niewielka ilość krwi potrzebna do przeprowadzenia pomiaru, szybkość uzyskiwania wyników, niski koszt oraz niewielkie w porównaniu z chromatografią wymagania aparaturowe.

W badaniu obejmującym 156 próbek krwi od chorych na raka jelita grubego i nowotwory głowy i szyi leczonych z użyciem schematów chemioterapii zawierających 5-FU wykazano, że wyniki uzyskiwane za pomocą immunotestu firmy Saladax Biomedical są porównywalne z wynikami otrzymanymi przy użyciu standardowej metody — LC-MSMS [27]. Wydaje się, że wymienione zalety nowej metody pozwolą na jej szersze zastosowanie w leczeniu onkologicznym, w tym także w odniesieniu do innych leków.

Tabela 3. Algorytm modyfikacji dawki 5-FU w zależności od jego stężenia w osoczu, zaproponowany przez Gamelina i wsp. [12]  
 Table 3. The algorithm to modify the dose of 5-FU, depending on its concentrations in plasma, proposed by Gamelin et al. [12]

Nieobecność toksycznych działań leczenia		Obecność toksycznych działań leczenia
Stężenie 5-FU w osoczu [mcg/l]	AUC [mg·h/l]	Zmiana dawki 5-FU w stosunku do poprzedniej dawki
< 500	< 4	+70%
500–1000	4 do < 8	+50%
1000–1200	8 do < 10	+40%
1200–1500	10 do < 12	+30%
1500–1800	12 do < 15	+20%
1800–2200	15 do < 18	+10%
2200–2500	18 do < 20	+5%
2500–3000	20 do < 24	Bez zmiany dawki
3000–3500	24 do < 27	-5%
3500–3700	28 do < 31	-10%
> 3700	> 31	-15%

### Zakres terapeutyczny stężenia 5-fluorouracylu w osoczu i algorytm zmiany dawki leku

Badania oceniające farmakokinetykę 5-FU wykazały, że AUC > 25 mg·h/l u chorych na raka jelita grubego [3, 10] i AUC > 30 mg·h/l u chorych na nowotwory głowy i szyi [3, 25] wiąże się ze zwiększoną toksycznością leczenia. Na tej podstawie przyjęto, że dla schematu LF2 stosowanego we wlewie ciągłym w raku jelita grubego optymalny zakres AUC dla 5-FU powinien być zawarty w granicach 20–25 mg·h/l (tab. 3), a przy stosowaniu 5-FU z cispłatywą w nowotworach głowy i szyi — w granicach 25–30 mg·h/l [3]. Pożądana wartość AUC dla schematów zawierających 5-FU we wlewie ciągłym i leukoworynę pozostawała jednakowa w różnych badaniach [5, 10–12]. Ten sam zakres AUC był podstawą dla badań oceniających docelowe stężenie 5-FU podczas stosowania schematów FOLFOX czy FOLFIRI. Mimo wcześniejszych wątpliwości wydaje się, że terapeutyczny zakres AUC jest taki sam dla wszystkich schematów chemioterapii opartych na 5-FU podawanym w ciągłym wlewie dożylnym. Ostatnio jednak dla schematu FOLFOX zaleca się stosowanie pożądanego terapeutycznego zakresu AUC w granicach 20–30 mg·h/l. Uzasadnia się to dobrą tolerancją tego schematu i mniejszą częstością koniecznych zmian dawkowania leku [22].

### Efektywność kosztowa monitorowania stężenia 5-fluorouracylu w osoczu

Dodatkowym czynnikiem przemawiającym za optymalizacją dawkowania 5-FU są korzyści ekonomiczne.

Wieloośrodkowe badanie z randomizacją wykazało, że koszty leczenia toksycznych powikłań terapii z użyciem 5-FU i cispłatywy w nowotworach głowy i szyi są w przypadku indywidualizacji dawki 5-FU o około 70% niższe w porównaniu z kosztami tych powikłań u chorych leczonych konwencjonalną metodą [25]. U chorych otrzymujących indywidualizowane dawki 5-FU o około 14% niższy był także całkowity koszt leczenia. Wyniki kilku badań sugerują, że skuteczność schematów chemioterapii LV5FU2 z optymalizacją dawkowania 5-FU jest porównywalna do uzyskiwanych przy użyciu schematów wielolekowych (FOLFOX czy FOLFIRI) ze standardowym dawkowaniem 5-FU [4, 10, 11]. Wydaje się także, że zastosowanie FOLFOX z monitorowaniem stężenia 5-FU w osoczu może mieć podobną skuteczność kliniczną do schematu FOLFOX z dodatkiem bewacyzumabu [3]. Potwierdzenie takiej hipotezy w dużych badaniach III fazy miałyby duże znaczenie zarówno w kategoriach klinicznych, jak i ekonomicznych.

### Podsumowanie

Przedstawiony przegląd piśmiennictwa wskazuje, że dawkowanie leków cytotoksycznych na podstawie BSA nie pozwala na zapewnienie ich optymalnego stężenia w ustroju. Źródłem różnic w farmakokinetyce leków przeciwnowotworowych są indywidualne cechy genetyczne chorych związane z wchłanianiem, dystrybucją, metabolizmem i wydalaniem leków. Kliniczne efekty leczenia są natomiast w przypadku wielu leków ściśle związane z ich całkowitym stężeniem wyrażonym jako AUC. Lekiem, w którym zależność ta jest szczególnie silna, jest 5-FU. Dawkowanie 5-FU oparte na monito-

rowaniu jego stężenia w osoczu zmniejsza toksyczność i zwiększa skuteczność leczenia. Obecnie znany jest pożądany terapeutyczny zakres stężeń 5-FU w osoczu i opracowano algorytmy modyfikacji jego dawki. Opracowanie metody pozwalającej ustalić szybko, wygodnie i względnie tanio optymalną dawkę 5-FU stwarza możliwość jej indywidualizacji w codziennej praktyce klinicznej. Dalsze badania powinny określić przydatność tej metody w odniesieniu do nowych schematów chemioterapii zawierających 5-FU, w tym z użyciem leków ukierunkowanych molekularnie.

## Piśmiennictwo

1. Capitain O., Boisdrón-Celle M., Poirier A.L., Abadie-Lacourtoisie S., Morel A., Gamelin E. The influence of fluorouracil outcome parameters on tolerance and efficacy in patients with advanced colorectal cancer. *Pharmacogenomics J.* 2008; 8: 256–267.
2. Bertino J., Fleisher M., Beumer J.H. i wsp. Highlights from: 5-Fluorouracil drug management pharmacokinetics and pharmacogenomics workshop; Orlando, Floryda; January 2007. *Clin. Colorectal Cancer* 2007; 6: 407–422.
3. Saif W., Choma A., Salamone S.J., Chu E. Pharmacokinetically guided dose adjustment of 5-fluorouracil: a rational approach to improving therapeutic outcomes. *J. Natl. Cancer Inst.* 2009; 101: 1543–1552.
4. Gamelin E., Boisdrón-Celle M. Dose monitoring of 5-fluorouracil in patients with colorectal or head and neck cancer – status of the art. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 1999; 30: 71–79.
5. Capitain O., Asevoaia A., Boisdrón-Celle M., Poirier A., Maillart P., Morel A., Gamelin E. Influence of pharmacogenetic polymorphism on 5-fluorouracil and irinotecan efficacy and tolerance in patients treated for advanced colorectal cancer. *ASCO. Gastrointestinal Cancers Symposium 2008*, Abstrakt 429.
6. Marsh S., Collie-Duguid E., Li T., Liu X., McLeod H.L. Ethnic variation in the thymidylate synthase enhancer region polymorphism among Caucasian and Asian populations. *Genomics* 1999; 58: 310–312.
7. Chen J., Kyte C., Chan W., Wetmur J.G., Fuchs C.S., Giovannucci E. Polymorphism in the thymidylate synthase promoter enhancer region and risk of colorectal adenomas. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2004; 13: 2247–2250.
8. Lecomte T., Ferraz J.M., Zinzindohouè F. i wsp. Thymidylate synthase gene polymorphism predicts toxicity in colorectal cancer patients receiving 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Clin. Cancer Res.* 2004; 10: 5880–5888.
9. Schwab M., Zanger U.M., Marx C. i wsp. Role of genetic and nongenetic factors for fluorouracil treatment-related severe toxicity: a prospective clinical trial by the German 5-FU Toxicity Study Group. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 2131–2138.
10. Ychou M., Duffour J., Kramar A. i wsp. Individual 5-FU dose adaptation in metastatic colorectal cancer: results of a phase II study using a bimonthly pharmacokinetically intensified LV5FU2 regimen. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2003; 52: 282–290.
11. DiPaolo A., Lencioni M., Amatori F. i wsp. 5-fluorouracil pharmacokinetics predicts disease-free survival in patients administered adjuvant chemotherapy for colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 2749–2755.
12. Gamelin E., Delva R., Jacob J. i wsp. Individual 5-fluorouracil dose adjustment based on pharmacokinetic follow-up compared with conventional dosage: results of a multicenter randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 2099–2105.
13. Hillcoat B.L., McCulloch P.B., Figueredo A.T., Ehsan M.H., Rosenfeld J.M. Clinical response and plasma levels of 5-fluorouracil in patients with colonic cancer treated by drug infusion. *Br. J. Cancer* 1978; 38: 719–724.
14. Au J.L., Rustum Y.M., Ledesma E.J., Mittelman A., Creaven P.J. Clinical pharmacological studies of concurrent infusion of 5-fluorouracil and thymidine in treatment of colorectal carcinomas. *Cancer Res.* 1982; 42: 2930–2937.
15. van Groeningen C.J., Pinedo H.M., Heddes J. i wsp. Pharmacokinetics of 5-fluorouracil assessed with a sensitive mass spectrometric method in patients on a dose escalation schedule. *Cancer Res.* 1988; 48: 6956–6961.
16. Yoshida T., Araki E., Iigo M. i wsp. Clinical significance of monitoring serum levels of 5-fluorouracil by continuous infusion in patients with advanced colonic cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1990; 26: 352–354.
17. Trump D.L., Egorin M.J., Forrest A., Willson J.K., Remick S., Tutsch K.D. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of fluorouracil during 72-hour continuous infusion with and without dipyridamole. *J. Clin. Oncol.* 1991; 9: 2027–2035.
18. Gamelin E., Boisdrón-Celle M., Delva R. i wsp. Long-term weekly treatment of colorectal metastatic cancer with fluorouracil and leucovorin: results of multicentric prospective trial of fluorouracil dosage optimization by pharmacokinetic monitoring in 152 patients. *J. Clin. Oncol.* 1998; 16: 1470–1478.
19. Ychou M., Duffour J., Pinguet F. i wsp. Individual 5FU-dose adaptation schedule using bimonthly pharmacokinetically modulated LV5FU2 regimen: a feasibility study in patients with advanced colorectal cancer. *Anticancer Res.* 1999; 19: 2229–2235.
20. Capitain O., Asevoaia A., Boisdrón-Celle M., Poirier A.L., Morel A., Gamelin E. Individual fluorouracil dose adjustment in FOLFOX based on pharmacokinetic follow-up compared with conventional body-area-surface dosing: a phase II, proof-of-concept study. *Clin. Colorectal Cancer* 8 czerwca 2012 [Epub ahead of print].
21. Wenstrup R.J., Eisenbraun A.J., Saam J. i wsp. Effect of 5-FU interpatient pharmacokinetic variability on 5-FU dosing of metastatic and adjuvant colon cancer patients on FOLFOX regimen. *ASCO. Gastrointestinal Cancers Symposium 2010*, Abstrakt 446.
22. Kaldate R.R., Haregewoin A., Grier C.E., Hamilton S.A., McLeod H.L. Modeling the 5-fluorouracil area under the curve versus dose relationship to develop a pharmacokinetic dosing algorithm for colorectal cancer patients receiving FOLFOX 6. *Oncologist* 2012; 17: 296–302.
23. Haregewoin A., Hamilton S.A., Grier C.E., Kaldate R.R. Effect of BSA dosing on 5-FU exposure among colorectal cancer patients depending on their gender and age. *ASCO. General Poster Session, Gastrointestinal (Colorectal) Cancer 2012*, Abstrakt 3627.
24. Milano G., Etienne M.C., Renée N. i wsp. Relationship between fluorouracil systemic exposure and tumor response and patient survival. *J. Clin. Oncol.* 1994; 12: 1291–1295.
25. Fety R., Rolland F., Barberi-Heyob M. i wsp. Clinical impact of pharmacokinetically-guided dose adaptation of 5-fluorouracil: results from a multicentric randomized trial in patients with locally advanced head and neck carcinomas. *Clin. Cancer Res.* 1998; 4: 2039–2045.
26. Zhao L., Liu W., Zhao C. i wsp. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of fluorouracil in nasopharyngeal cancer patients. *ASCO. Developmental Therapeutics — Clinical Pharmacology and Immunotherapy 2012*, Abstrakt e13021.
27. Beumer J.H., Boisdrón-Celle M., Clarke W. i wsp. Multicenter evaluation of a novel nanoparticle immunoassay for 5-fluorouracil on the Olympus AU400 analyzer. *Ther. Drug Monit.* 2009; 31: 688–694.