

INDIVIDUÁLNÍ ROZDÍLY FARMAKOKINETIKY TAXOLU U PACIENTEK S RAKOVINOU PRSU

Eugen Kubala¹, Kateřina Kubáčková¹, Stanislav Horský², Radka Václavíková², Pavel Souček², Marcela Mrhalová¹, Roman Kodet¹, Zdeněk Roth², Ladislav Tomášek², Ivan Gut²

¹Fakultní nemocnice v Motole, Praha

²Státní zdravotní ústav, Centrum pracovního lékařství, Odborná skupina pro biotransformace, Praha

Cíl: Analýza farmakokinetiky Taxolu® (paklitaxelu) v plazmě pacientek s rakovinou prsu při opakované infuzi a zjištění případných individuálních rozdílů.

Metodika: Koncentrace paklitaxelu v plazmě byly měřeny u 8 pacientek s rakovinou prsu před infuzí, během 60minutové infuze a dále 10 až 1 380 min po infuzi pomocí HPLC s UV detekcí.

Výsledky: Individuální farmakokinetické parametry paklitaxelu v plazmě pacientek se během tří infuzí podaných jednou týdně nezměnily, ale pacientky se vzájemně významně lišily. Tyto rozdíly přetrvávaly u všech sledovaných parametrů: $t_{0,5\alpha}$, $t_{0,5\beta}$ a $t_{0,5\gamma}$ a odpovídající rychlosti vylučování, AUC_{0-t}, AUC_{0-∞}, střední residenční čas, objem při ustáleném stavu V_{ss}, C_{max} a clearance byly signifikantně odlišné mezi pacientkami podle parametrické analýzy ANOVA. Při signifikantních rozdílech v Bartlettově testu variability byly rozdíly mezi pacientkami potvrzeny neparametrickým Kruskal-Wallisovým testem. Individuální hodnoty $t_{0,5\alpha}$ všech pacientek signifikantně korelovaly s $t_{0,5\beta}$ ($r=0,587$, $p<0,01$). Ve srovnání s pacientkou s nejvyšší eliminací paklitaxelu byla AUC_{0-t} u pacientky s nejpomalejší eliminací 3,2krát vyšší, CL_{0-t} a CL_{0-∞} byly 3,6krát nižší a CL/kg byla 3krát nižší. V souladu s tím byla rychlost eliminace v α fázi 3krát vyšší a $t_{0,5\alpha}$ byl kratší u pacientky s nejvyšší clearance. Podobné rozdíly byly nalezeny i v β fázi. Pacientka s nejnižší clearance měla navíc 2,4krát vyšší C_{max}. Farmakokinetické rozdíly mezi pacientkami byly tedy signifikantní a nezměnily se během opakovaných infuzí paklitaxelu. Značné individuální rozdíly by mohly potenciálně ovlivnit léčebné účinky, jež závisí na koncentraci.

Závěr: Farmakokinetika paklitaxelu u pacientek s rakovinou prsu se individuálně výrazně lišila a rozdíly trvaly při opakovaných infuzích, takže nelze vyloučit vliv na účinnost léčby.

Klíčová slova: Taxol®, paklitaxel, farmakokinetika, rakovina prsu, individuální rozdíly.

INDIVIDUAL DIFFERENCES OF TAXOL PHARMACOKINETICS IN BREAST CANCER PATIENTS

Objective: Analysis of pharmacokinetic parameters of Taxol® (paclitaxel) in patients with breast cancer in repeated infusions and determination of possible individual differences

Methods: Paclitaxel plasma concentrations were determined by HPLC with UV detection in 8 breast cancer patients before, during 60min of infusion and 10 to 1 380 min after infusion.

Results: Pharmacokinetic parameters of the individual patients did not significantly change during 3 repeated weekly infusions. However, these parameters (half-lives $t_{0,5\alpha}$, $t_{0,5\beta}$ and $t_{0,5\gamma}$ and corresponding rates, intercepts, area under concentration AUC_{0-t}, AUC_{0-∞}, mean residence time, volume at the steady state, maximal concentration and clearance) were significantly different among the patients as proved by parametric analysis ANOVA. Significant differences among the patients detected by the Bartlett's test for variability were confirmed by the non-parametric Kruskal-Wallis test. The individual values of $t_{0,5\alpha}$ of all patients significantly correlated with $t_{0,5\beta}$ ($r=0,587$, $p<0,01$), but there was no correlation between $t_{0,5\beta}$ and $t_{0,5\gamma}$. The observed differences between patients with most rapid and slowest elimination of paclitaxel were 3.2-fold (AUC_{0-t}), 3.6-fold (CL_{0-t} and CL_{0-∞}) and 3-fold (CL/kg). In accordance, the difference in rate of α phase in these patients was 3-fold and $t_{0,5\alpha}$ was also shorter in the patient with the most rapid clearance. Similar differences were found in β phase. Moreover, the patient with the lowest clearance had 2.4-higher maximal concentration (C_{max}).

Conclusion: Pharmacokinetic parameters in the followed patients were significantly different and the differences remained unchanged during repeated infusions. These differences could potentially influence outcome of the therapy.

Keywords: Taxol®, paclitaxel, pharmacokinetics, breast cancer, individual differences.

Klin Farmakol Farm 2007; 21: 7–11

Úvod

Taxol® (generický název aktivní látky paklitaxel) je úspěšně používán v léčbě rakoviny prsu, vaječníků a plíc (1, 2). Paklitaxel je mitotickým jedem, který stimuluje polymerizaci mikrotubulů a inhibuje jejich depolymerizaci (3). Dále působí tvorbu deformovaných struktur, hvězdiček (4) a indukuje apoptózu (5, 6). Paklitaxel je metabolizován v játrech a metabolity jsou vylučovány žlučí (7, 8). U lidí je metabolizován hlavně na 6 α -hydroxypaklitaxel (cytochromem P450 2C8, CYP2C8), C3'-hydroxypak-

litaxel (CYP3A4) a minoritní metabolity. Metabolity jsou až 30krát méně účinné než samotný paklitaxel (9). Farmakokinetické parametry v plazmě se využívají pro hodnocení biologické dostupnosti (bioavailability) a jejich modifikace metabolismem, zvláště v pozdějších fázích eliminace. Studie farmakokinetiky paklitaxelu ukázaly, že křivky nejlépe odpovídají tří-kompartmentovému modelu s nelineární kinetikou danou kapacitně limitovaným metabolismem. Rozdíly mezi dobrovolníky byly popsány především u C_{max}, AUC, CL_T (l/h), $t_{0,5\alpha}$, $t_{0,5\beta}$

a $t_{0,5\gamma}$ (10). Výsledky Huizinga et al. (11) naznačily, že $t_{0,5\alpha}$, $t_{0,5\beta}$ a $t_{0,5\gamma}$ by mohly vzájemně korelovat a $t_{0,5\gamma}$ by mohl být odhadován z $t_{0,5\beta}$. Popsali jsme, že u potkanů Sprague-Dawley/Cub, nesoucích spontánní lymfomy, došlo při opakovaném podání k významnému poklesu hladin a AUC paklitaxelu (12), přičemž jeho protinádorové účinky byly nižší než u docetaxelu, jehož farmakokinetika ovlivněna nebyla. Snížení hladin paklitaxelu u potkanů nebylo zřejmě způsobeno P-glykoproteinem, protože tento transportér nebyl měřitelně exprimován

Tabulka 1. Klinicko-patologické údaje pacientek

Pacientka (věk)	Diagnóza	Popis	Klinické stadium podle UICC	Datum biopsie	Typ nádoru	Stupeň nádoru	ER	PR	ERB-B2	p53	Léčba a odpověď	Přežití (měsíce)
I (66)	C50.9	L.SIN*	T3NxM1 (pleura, plíce, skelet)	21.6.05	IDC	G2	+	+	-	N.H.	2005 – PCHT 6x FAC: PD do plic, pleury a skeletu 2006 – PCHT Taxol mono 1x týdně, 24 cyklů: SD, potom Femara, potom Taxol mono 1x týdně	DFS = 0 OS = 18
II (71)	C50.9	L.SIN*	T3N1M0	22.11.01	IDC	G3	-	-	1+	10%	2002 – NCHT 3x FAC: CR 2002 – ablace a exenterace axily 2002 – ACHT 3x FAC 2006 – PD (lokální relaps a meta do jater), potom Taxol mono 1x týdně	DFS = 49 OS = 51
III (63)	C50.9	L.SIN	T2N2M0	18.10.01 operace	IDC	G2	+	-	1+	N.H.	2001 – ablace a exenterace axily 2002 – ACHT 6x AC 2005 – Tamoxifen: PD do levé suprakl. uzliny a skeletu, potom PCHT Taxol mono 1x týdně 7 cyklů: CR, potom Arimidex: PD do mozku 26.12.05 Exitus	DFS = 3 OS = 50
IV (64)	C50.9	L.DX	T2N1M0	24.6.03	IDC	G3	+	+	1+	+	2003 – ACHT 6x FAC 2005 – Tamoxifen: PD do plic 2006 – PCHT Taxol mono 1x týdně: SD, potom Arimidex	DFS = 25 OS = 37
V (66)	C50.9	L.DX	T1cN1bM0	9.5.06	IDC	G3	-	-	1+	5%	2006 – ACHT 4x FAC: PD do plic, potom PCHT Taxol mono 1x týdně: generalizace	
VI (67)	C50.9	L.DX*	T4N4M0 restaging 3.12.04: T2N1M0	11.5.04	IDC	G2	+	+	2+ až 3+	+	2004 – NCHT 4x AC, potom 4x Taxotere 2004 – ablace a exenterace axily 2005 – Arimidex: PD do jater, potom PHT Faslodex: PD 2005–2006 – PCHT Taxol mono 1x týdně: PD, potom symptomatická terapie	DFS = 5 OS = 25
VII (60)	C50.9	L.DX*	T4N1M1 (játra)	22.11.05	IDC	G3	-	-	3+	N.H.	2005 – PCHT 2x AC: PD 2006 – Taxol mono 1x týdně a Herceptin 1x týdně	DFS = 0 OS = 12
VIII (75)	C50.9	L.SIN*	T3N2M1 (játra, skelet)	17.5.06	IDC	G3	-	-	3+	+	2006 – PCHT 4x AC, potom Taxol mono 1x týdně, potom Taxol a Herceptin, potom Herceptin mono: PD do jatra a skeletu	DFS = 0 OS = 6

v nádorech, játrech či střevech ani po opakovaném podání paklitaxelu (13). Zvýšený metabolismus paklitaxelu významně snížil rovněž jeho cytotoxické účinky proti nádorovým buňkám P388D1 in vitro (14). Z těchto důvodů se domníváme, že by případné odlišnosti v metabolismu a farmakokinetice paklitaxelu mohly působit rozdílné protinádorové účinky u jednotlivých pacientů. Cílem naší studie bylo zjistit, zda opakované infuze Taxolu® mohou způsobit změny jeho dispozice ovlivněním metabolismu. U jedné pacientky po indukci CYP3A4 tyto změny popsal Monsarrat et al. (8). Dalším cílem bylo zjistit, zda případné rozdíly farmakokinetiky u pacientek podléhají změnám nebo jsou více méně stálé při opakovaných infuzích. Sledovali jsme řadu farmakokinetických parametrů po infuzi Taxolu® u pacientek s pokročilou rakovinou prsu léčených monoterapií. Tato terapie byla zařazena po předchozích různých úspěšných typech chemoterapie a umožnila vyhnout se případným metabolickým interakcím, jež by mohly výsledky významně ovlivnit. Dávky 70–80 mg/m² umožňují opakovanou aplikaci až 40 infuzí a i když nemusí vést k vyléčení, výrazně zlepšují kvalitu života pacientek. Výběr pacientek závisel i na schopnosti snášet opakované infuze Taxolu® a jejich informovaném souhlasu s účastí ve studii farmakokinetiky.

Materiál a metody

Materiál

Taxol® pro infuze byl získán od Bristol-Myers Squibb (Princeton, NJ) a paklitaxel pro kalibrační účely a HPLC analytiku i všechny další chemikálie byly zakoupeny od Sigma-Aldrich (Praha, ČR). Krev pro kalibraci byla získána z Ústavu hematologie při FN Vinohrady, Praha. Předkolonky Sep/Pak Vac 1 cc (100 mg) CN byly zakoupeny od firmy Waters Corp., (Milford, MA).

Pacientky, infuze Taxolu® a vzorky krve

Léčba Taxolem® v dávkách 70–80 mg/m² jednou týdně se ukázala užitečnou pro nízkou toxicitu a dobrou snášenlivost. Současné léčebné tendence při progresi rakoviny prsu jsou v použití monoterapie, která dosahuje podobné účinky jako kombinovaná léčba a v případě progresu je možné použít jiné cytostatikum. Všechny pacientky naší skupiny měly paliativní terapii první linie a žádná z nich netrpěla toxicitou 3 nebo 4 stupně během tří studovaných infuzí. Všechny pacientky měly WHO/Karnofsky performance status = 0, a byly po menopauze. Klinicko-patologické údaje pacientek jsou shrnuty v tabulce 1.

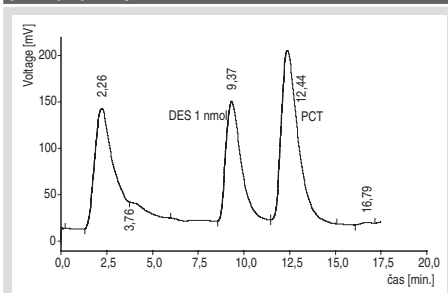
Taxol® pro infuze byl naředěn podle instrukcí výrobce. Infuze byly po dobu 60 min řízeny in-

fuzní pumpou 707 (Codan Argus AG, Heimberg, Švýcarsko). Před infuzí byla zavedena kanyla do loketní žíly „zdravé“ ruky k zajištění dokonalé infuze dané primárně léčebnými důvody a odběrová kanyla byla zavedená do druhé ruky na straně, kde byla provedena operace prsu. Vzorky krve byly odebírány před infuzí (čas = 0) a ve 20, 40 a 60 min infuze (těsně před koncem). Po skončení infuze byly vzorky odebírány po 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 min a další den po 1260, 1320 a 1380 min. Vzorky ve zkumavkách S-Monovette (Sarstedt, Nuembrecht, Německo) s EDTA proti sražení krve byly uloženy lednici do 5 hodin od infuze a pak centrifugovány (3000 ot/min, 5 min) pro získání plazmy. Duplikáty každé plazmy po 1 ml byly uloženy při -80 °C do analýzy, která proběhla během 6–12 týdnů po infuzi.

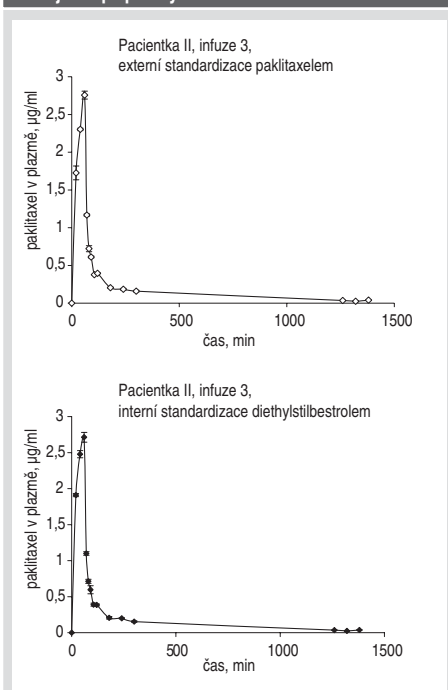
Příprava vzorků a HPLC stanovení paklitaxelu

Před analýzou byly vzorky plazmy spontánně rozmrazeny, smíchány s pufrům octanu amonného, pH 5,5 a centrifugovány (1500 ot/min, 5 min). Alikvot 1,8 ml byl nanesen na SPE Sep-Pak Vac 1 cc CN Cartridges (100 mg, Waters), aktivované 2 ml methanolu a pak 2 x 1 ml pufru 0,01 M octanu amonného. SPE (solid phase extraction) kolonka byla pak promyta 2 x 1 ml pufru 0,01 M octanu amonného,

Obrázek 1. HPLC chromatogram paklitaxelu (PCT) a diethylstilbestrolu (DES). Podrobnosti stanovení jsou popsány v Metodách



Obrázek 2. Příklad farmakokinetiky paklitaxelu u jedné z pacientek. Jednalo se o třetí infuzi pacientky číslo II standardizovanou externě paklitaxelem a interně diethylstilbestrolem. Podrobnosti hodnocení jsou popsány v Metodách



2 × 1 ml methanolu s puřem 0,01 M octanu amonného (20 : 80) a pak 1 ml hexanu. Kolony byly 1 min vysušeny pod vakuem a paklitaxel byl eluován do skleněných zkumavek 2 ml směsi acetonitrilu a triethylaminu (1 000 : 1). Vzorky byly vysušeny při 40 °C mírným proudem dusíku. Paklitaxel byl stanoven pomocí HPLC při 227 nm podle Wiley et al. (15) s mobilní fází acetonitril-methanol-voda s obsahem 0,01 M octanu amonného (pH 5,0 kyselinou octovou) (4 : 1 : 5, v/v/v). Místo popsané kolony C8 – 5 µm (250 × 4,6 mm ID) jsme použili kolonu C18 – 5 µm od Macherey-Nagel (125 × 2 mm ID), 100 µL smyčku s průtokem 0,2 ml/min. Touto modifikací jsme dosáhli o řád lepší citlivosti (v podstatě pro > 10krát menší objem kolony) s detekčním limitem 0,01 µM koncentrace v plazmě při analýze 0,5–1 ml plazmy (0,01 nmol/ml plazmy resp. asi 0,01 µg/ml). Použili jsme jednak externí standardizaci s kalibrační křivkou paklitaxelu provedenou při každé analýze, která byla lineární v potřebném rozsahu 0,01–5 µM s po-

užitím 1 ml plazmy a SPE extrakce identické jako u vzorků z pacientky. Navíc jsme použili interní standardy diethylstilbestrolu (DES) podle doporučení firmy Supelco (Sigma-Aldrich, Praha, ČR). Vzorky byly po SPE extrakci vysušeny mírným proudem dusíku a před HPLC analýzou rozpuštěny ve 150 µL mobilní fáze obsahující 1 nmol DES/vzorek. Ukázalo se, že není žádoucí, aby DES procházel přes SPE kolony současně s paklitaxelem, neboť podmínky ideální pro paklitaxel byly zcela nevhodné pro DES. Tento problém byl vyřešen přidáním DES k mobilní fázi pro rozpuštění vzorku, které poskytlo dokonale reprodukovatelné výsledky. Srovnání externí standardizace paklitaxelem ($t_R = 10,2 \text{ min}$) (obrázek 1) a interní standardizace DES ($t_R = 9,4 \text{ min}$) ukázalo identické výsledky a podpořilo kvalitu analýz. Použili jsme HPLC ECOM (Praha, ČR). Záznamy byly hodnoceny pomocí CSW software (Chromatography Station for Windows), verze 1,7 od ECOM.

Farmakokinetické a statistické analýzy

Koncentrace paklitaxelu v plazmě byly počítány pomocí Microsoft Excel. Pro znázornění komplexních křivek, jejich tří exponenciálních komponent (α , β , γ) a především farmakokinetických parametrů: poločasů vylučování z plazmy v α , β a γ fázi eliminace ($t_{0,5\alpha}$, $t_{0,5\beta}$ a $t_{0,5\gamma}$), oblastí pod křivkou koncentrace (AUC, area under the curve) AUC_{0-t} , $AUC_{t-\infty}$, $AUC_{0-\infty}$, středního residenčního času (MRT, mean residence time), objemu u ustáleném stavu (V_{ss} , volume at the steady state), maximální koncentrace C_{max} , clearance CL_{0-t} , $CL_{0-\infty}$, a CL/kg byl použit program PK Solutions 2.0 (Summit Research Services, Montrose, CO). Statistické výpočty byly provedeny analýzou variance (ANOVA), Bartlettovým testem a neparametrickou analýzou Kruskal-Wallis za pomoci programu EpiINFO, verze 6,04b, (WHO, Geneva, Švýcarsko).

Výsledky

Hodnocení vývoje farmakokinetických parametrů během opakovaných infuzí.

Příklad farmakokinetiky paklitaxelu u jedné z pacientek je uveden na obrázku 2. U pacientek II, IV, VII a VIII byla zaznamenána postupně se zvyšující C_{max} . K poklesu C_{max} naopak došlo u pacientky V a hodnoty tří dalších pacientek zůstaly nezměněné. U dalších farmakokinetických parametrů jsme nenašli žádnou tendenci k poklesu či vzestupu (tabulka 2). AUC se odpovídajícím způsobem zvýšila nebo snížila u pacientek II, IV, V a VIII, ale ne u pacientky číslo VII. Změny však byly většinou příliš malé, aby mohly ovlivnit účinnost léčby. Našli jsme nízký postupný pokles AUC u pacientky II, ale naopak postupný vzestup AUC u pacientek III, IV, a VIII a žádné změny u ostatních pacientek, což

naznačilo, že opakované infuze Taxolu® nesnižily jeho biologickou dostupnost. Navíc jsme pozorovali mírný postupný vzestup clearance jen u pacientky V, ale snížení clearance u pacientky IV a VIII a žádné systematické změny u ostatních 5 pacientek, což podporuje závěr, že se biologická dostupnost individuálně neměnila. Eliminace v α fázi se postupně zvýšila u pacientky III, ale klesla u II a nezměnila se u ostatních 6 pacientek. Eliminace v β fázi se zvýšila u pacientky VII, ale klesala u pacientek I, III a IV a eliminace v γ fázi se zvýšila u pacientek II a VI, ale poklesla u pacientky I a nezměnila se u ostatních. Podobně došlo postupně ke zvýšení MRT u VIII, ale snížení u pacientky II, u které poklesl i V_{ss} . Oba parametry neukázaly žádnou zjevnou tendenci během 3 infuzí u všech ostatních pacientek. Individuální změny farmakokinetiky pozorované během série 3 infuzí byly obecně tak malé, že jejich vliv na protinádorové účinky paklitaxelu je velmi pochybný. Dispozice a eliminace tak zůstaly prakticky nezměněné. Fakt, že nedošlo k žádným výrazným změnám metabolismu či vylučování paklitaxelu, které by mohly vyvolat snížení jeho protinádorových účinků, je pro další terapii Taxolem® obecně velmi příznivý.

Hodnocení rozdílů farmakokinetických parametrů mezi pacientkami

V protikladu ke stabilitě většiny farmakokinetických parametrů u jednotlivých pacientek (intraindividuální variabilita) během opakovaných infuzí se ukázal být nález signifikantních rozdílů ve všech sledovaných farmakokinetických parametrech mezi pacienty (interindividuální variabilita). Rozdíly jasně prokázala parametrická analýza variance ANOVA. Protože Bartlettův test ukázal v některých případech rozdíly rozptylu, všechny parametry byly navíc počítány neparametrickou analýzou podle Kruskala a Wallise (tabulka 2). S ohledem na snášenlivost léčby byly dávky Taxolu v přepočtu na m^2 tělesného povrchu u jednotlivých pacientek mírně odlišné. Následkem toho nebyla zjištěna žádná korelace mezi dávkou v mg/m^2 a C_{max} a údaje proto dále neuvádíme. Dokonce i po přepočtu C_{max} tak, aby odrážela mírně odlišné dávky na povrch těla ($C_{max}/dávka$ v mg/m^2), byla C_{max} 2,4krát vyšší u pacientky III a až 2,7krát vyšší u pacientky V než u VI. Podobně v α fázi byla rychlost vylučování u pacientky V 3krát vyšší a $t_{0,5\alpha}$ byl 2,8krát kratší než u pacientky III. Totéž se projevilo v rozdílech mezi těmito dvěma pacientkami v β fázi. I ve fázi β a γ vylučovala pacientka III paklitaxel nejnížší rychlostí ze všech pacientek. Pořadí účinnosti eliminace u ostatních pacientek bylo odlišné oproti fázi α . Tento fakt ukázala sice signifikantní ale ne příliš úzká korelace hodnot $t_{0,5\alpha}$ proti $t_{0,5\beta}$ jednotlivých pacientek ($r = 0,58728$,

Tabulka 2. Farmakokinetické údaje pacientek

Pacientka		α fáze			β fáze			γ fáze									
a pořadí	C _{max}	intercept	rychlost	t _{0,5α}	intercept	rychlost	t _{0,5β}	intercept	rychlost	t _{0,5γ}	AUC(0-t)	AUC(0- ∞)	MRT	V _{ss} , plocha	CL 0-t	CL 0- ∞	CL/kg
infuze	$\mu\text{g/ml}$	$\mu\text{g/ml}$		min	$\mu\text{g/ml}$		min	$\mu\text{g/ml}$		min	$\mu\text{g/ml} \times \text{min}$	$\mu\text{g/ml} \times \text{min}$	min	litry	plocha	plocha	plocha
I - 1	2,0	0,78	123,4	5,62	0,60	16,1	43,0	0,28	1,555	445,6	305	327	603,1	276,91	492,5	459,2	5,466
I - 2	2,7	1,12	103,6	6,69	0,59	13,6	51,1	0,45	1,356	511,0	443	457	350,7	115,15	338,5	328,4	3,909
I - 3	2,4	2,00	104,0	6,67	0,60	12,8	54,1	0,27	1,112	622,9	352,0	378,3	404,2	160,29	426,1	396,6	4,721
průměr ± S,D,	2,37 ± 0,29	1,30 ± 0,5	110,3 ± 9,2	6,33 ± 0,50	0,60 ± 0,01	14,2 ± 1,4	49,4 ± 4,7	0,33 ± 0,08	1,341 ± 0,181	526,5 ± 73,2	366,7 ± 57,3	387,4 ± 53,5	347,7 ± 235,1	184,12 ± 68,1	419,0 ± 63,1	394,7 ± 53,4	4,699 ± 0,636
II - 1	1,8	1,28	114,4	6,06	0,55	18,6	37,2	0,22	1,093	634,3	281	304	403,5	199,12	533,4	493,5	5,365
II - 2	2,35	1,28	103,6	6,69	0,41	17,7	39,2	0,18	1,349	513,6	282,8	283,6	256,9	135,89	530,3	529,0	5,750
II - 3	2,8	1,79	77,5	8,94	0,31	21,0	32,9	0,24	1,573	440,6	297	301	249,9	124,41	505,1	497,8	5,411
průměr ± S,D,	2,32 ± 0,4	1,45 ± 0,2	98,5 ± 15,5	7,23 ± 1,24	0,42 ± 0,1	19,1 ± 1,4	36,4 ± 2,6	0,21 ± 0,02	1,338 ± 0,196	529,5 ± 78,9	286,9 ± 7,2	296,2 ± 9,0	303,4 ± 70,8	153,14 ± 32,8	522,9 ± 12,7	506,8 ± 15,8	5,509 ± 0,172
III - 1	5,4	3,13	47,3	14,66	0,81	8,9	78,23	0,80	1,397	496,00	826,3	881,1	392,6	57,93	157,3	147,5	1,967
III - 2	5,15	3,34	50,7	13,66	0,68	9,2	75,15	0,59	0,649	1067,8	830	839	394,8	61,18	156,7	155,0	2,066
III - 3	5,15	3,22	66,6	10,40	1,07	12,2	56,71	0,59	0,649	1067,8	1078	1091	405,2	48,28	120,6	119,2	1,589
průměr ± S,D,	5,23 ± 0,12	3,23 ± 0,1	54,9 ± 8,4	12,91 ± 1,8	0,85 ± 0,16	10,1 ± 1,5	70,03 ± 9,5	0,66 ± 0,01	0,898 ± 0,353	877,2 ± 269	911,4 ± 117,8	937 ± 110,2	397,5 ± 5,5	55,80 ± 54,8	144,9 ± 17,2	140,6 ± 15,4	1,874 ± 0,205
IV - 1	3,05	1,80	104,0	6,66	0,73	17,1	40,6	0,33	1,157	599,0	351	365	360,2	151,73	456,1	437,9	5,474
IV - 2	4,7	3,42	141,2	4,91	0,47	16,0	43,3	0,24	0,735	942,4	380,4	393,8	391,1	158,89	420,7	406,3	5,079
IV - 3	5,0	5,12	134,5	5,15	0,50	16,3	42,4	0,4	1,234	561,7	538,4	551,7	305,2	88,50	297,2	290,0	3,625
průměr ± S,D,	4,25 ± 0,86	3,45 ± 1,4	126,6 ± 16	5,57 ± 0,77	0,57 ± 0,12	16,5 ± 0,4	42,1 ± 1,1	0,32 ± 0,06	1,042 ± 0,219	701 ± 171	423,3 ± 82,3	436,8 ± 82,1	352,2 ± 35,5	133,04 ± 31,6	391,3 ± 68,1	378,1 ± 63,6	4,726 ± 0,795
V - 1	7,0	5,70	139,5	4,97	1,62	20,3	34,2	0,40	1,206	574,4	548	553	345,9	93,76	273,8	271,1	3,987
V - 2	5,0	3,00	162,7	4,26	0,66	14,3	48,4	0,38	1,561	443,8	515	529	246,5	69,91	291,4	283,6	4,171
V - 3	4,55	2,92	148,2	4,68	1,14	19,4	35,8	0,40	1,180	587,4	501,9	515,3	327,5	95,32	298,8	291,1	4,281
průměr ± S,D,	5,52 ± 1,1	3,87 ± 1,3	150,1 ± 9,6	4,64 ± 0,29	1,14 ± 0,39	18,0 ± 2,6	39,5 ± 6,3	0,39 ± 0,01	1,315 ± 0,174	532,2 ± 62,5	531,6 ± 21,1	532,4 ± 15,6	306,3 ± 43,2	86,33 ± 11,6	287,1 ± 11,7	281,9 ± 8,3	4,126 ± 0,12
VI - 1	1,59	0,89	61,2	11,32	0,79	21,3	32,5	0,21	1,213	571,3	243	255	353,1	180,15	535,4	510,3	6,378
VI - 2	2,3	1,42	94,0	7,38	0,46	12,5	55,5	0,38	2,219	312,3	321,7	325,3	252,9	101,06	404,1	399,7	4,996
VI - 3	1,65	0,98	58,1	11,92	0,31	14,7	47,3	0,27	2,223	311,7	242,8	252,0	289,2	149,19	535,4	515,8	6,448
průměr ± S,D,	1,85 ± 0,32	1,10 ± 0,2	71,1 ± 16,2	10,21 ± 2,0	0,52 ± 0,20	16,2 ± 3,8	45,1 ± 9,5	0,29 ± 0,07	1,885 ± 0,475	398,4 ± 122	269,2 ± 37,1	277,4 ± 33,9	298,4 ± 41,4	143,47 ± 32,5	491,6 ± 61,9	475,3 ± 53,5	5,941 ± 0,669
VII - 1	3,0	1,98	108,4	5,48	1,73	18,1	38,4	0,50	0,643	1078	677	973	1135	151,60	192,0	133,6	1,670
VII - 2	3,5	2,15	90,9	7,63	1,69	18,7	37,1	0,53	0,703	985,2	700,3	800,5	560,4	910,02	185,6	162,4	2,030
VII - 3	4,7	2,43	114,5	6,06	1,38	20,3	34,1	0,40	0,519	1334	624,6	970,4	1383	185,24	208,2	134,0	1,675
průměr ± S,D,	3,73 ± 0,71	2,19 ± 0,2	104,6 ± 10	6,39 ± 0,91	1,60 ± 0,16	19,0 ± 0,9	36,5 ± 1,8	0,48 ± 0,06	0,622 ± 0,077	1132 ± 147	667,3 ± 31,7	914,6 ± 80,7	1026 ± 344	142,61 ± 40,0	195,3 ± 9,5	143,4 ± 13,5	1,792 ± 0,168
VIII - 1	2,65	1,87	147,2	4,71	0,37	15,4	45,1	0,17	2,219	312,3	239,2	240,0	163,2	88,42	543,4	541,6	6,856
VIII - 2	2,8	1,68	172,9	4,01	0,37	13,7	50,7	0,27	2,217	312,6	274,9	275,5	193,5	91,32	472,9	471,8	5,972
VIII - 3	4,5	1,80	125,7	5,51	0,63	17,7	39,1	0,39	1,773	390,8	424,8	426,8	246,2	74,99	306,1	304,6	3,856
průměr ± S,D,	3,3 ± 0,8	1,78 ± 0,1	148,6 ± 19	4,74 ± 0,61	0,46 ± 0,12	15,6 ± 1,7	45,0 ± 4,7	0,28 ± 0,09	2,070 ± 0,210	338,6 ± 36,9	313,0 ± 80,4	314,1 ± 80,1	201,0 ± 34,3	85,91 ± 7,1	440,8 ± 99,5	439,3 ± 99,4	5,561 ± 1,259
ANOVA	0,000	0,005	0,000	0,000	0,000	0,006	0,001	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,029	0,000	0,000	0,000
Bartlett	NS	0,002	NS	NS	0,024	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,000	NS	0,024	0,036	0,038
Kruskal	0,005	0,012	0,007	0,008	0,019	0,049		0,016	0,032	0,032	0,006	0,001	0,011	0,031	0,008	0,008	0,023

Dávka Taxolu (mg/kg): pacientka I: 1,79, II: 1,71, III: 1,73, IV: 1,86, V: 2,21, VI: 1,63, VII: 1,63, VIII: 1,65 ANOVA – analýza variance, Bartlett – Bartlettův test rozptylu, Kruskal- Wallisův neparametrický test

p<0,01) a nevýznamná korelace mezi t_{0,5 β} a t_{0,5 γ} . Pokud jde o rozdíly clearance mezi pacientkami, tak měla pacientka III nejnižší eliminaci paklitaxelu v α a β fázi a druhou nejpomalejší ve fázi γ . Této

celkově nejnižší zjištěné clearance samozřejmě odpovídala největší AUC v kontrastu k pacientce VI, jež měla nejvyšší clearance (CL/kg) a nejmenší AUC. Průměrná hodnota všech 3 infuzí pro AUC byla

u pacientky číslo III 3,2krát vyšší než u pacientky VI, její CL₀₋₁ byla 3,4krát nižší a CL/kg byla 3,3krát nižší. Rozdíly dobře odpovídají 2,1krát delšímu t_{0,5 γ} u pacientky číslo III oproti pacientce VI. Je však zajíma-

vé, že rozdíly v $t_{0,5}\alpha$ a $t_{0,5}\beta$ u těchto dvou pacientek byly menší (1,3krát resp. 1,6krát).

Diskuze

Protinádorové účinky cytostatik jsou úměrné dávce a odpovídajícím hladinám v organismu a době, po kterou tyto koncentrace přetrvávají. To platí i pro paklitaxel, jehož metabolity mají velice slabou nebo žádnou protinádorovou účinnost. Navíc jsou hladiny metabolitů v krvi o 2 řády nižší než hladiny paklitaxelu (7, 8, 12). Změny farmakokinetiky mohou tedy naznačit měnící se distribuci a eliminaci léku v organismu a protože se účinky chemoterapie často postupně snižují, může to být jeden z důvodů běžně pozorovaného postupného selhávání chemoterapie. Analogicky by mohly individuální rozdíly biologické dostupnosti a změněného metabolismu cytostatika přispět k různému účinku chemoterapie. V minulosti byly skutečně publikovány zajímavé poznatky o možnosti deaktivace paklitaxelu např. jeho zrychleným metabolismem in vitro u nádorových buněčných linií (14) i in vivo u modelových potkanů (12) a jedné pacientky s nádorem prsu (8). Další studie naznačily, že za tento pokles není zodpovědný transportér P-glykoprotein (13) a že by se spíše mohlo jednat o změnu způsobenou indukci aktivního metabolismu. Taková změna by mohla být identifikována pomocí detailní farmakokinetické studie, jejíž výsledky jsou předmětem tohoto článku.

U jednotlivých sledovaných pacientek se žádné snížení biologické dostupnosti při opakovaných podáních Taxolu® neukázalo. Ve skutečnosti se během tří následných infuzí jednou týdně zvýšily C_{max} a AUC u čtyř z osmi pacientek. Ke snížení došlo jen u jedné pacientky a u zbývajících tří zůstaly tyto parametry nezměněny.

Na druhé straně se však ukázaly významné rozdíly všech sledovaných farmakokinetických parametrů mezi pacientkami (rychlost poklesu koncentrace v plazmě, a poločasy v α , β i γ fázi eliminace, AUC, MRT, V_{ss} a clearance v různých přepočtech). Největší zaznamenaný rozdíl mezi pacientkami byl 3,6 násobný rozdíl v AUC_{0-1} . Pacientky se mezi sebou lišily opakovaně, což znamená, že mezi nimi byly značné rozdíly v biologické dostupnosti léčiva. Vzhledem k tomu, že účinky paklitaxelu jsou úměrné jeho koncentraci v organismu, nelze vyloučit, že indi-

viduálně odlišná farmakokinetika může přispět k odlišné protinádorové účinnosti paklitaxelu u různých pacientek. Nalezení tak velkých rozdílů naznačuje, že podrobnější farmakokinetické sledování hladin paklitaxelu v plazmě by u některých pacientek mohlo naznačit potřebu zvýšení dávky. Na druhé straně je třeba mít na paměti, že rozšíření studie naráží na etické důvody, jež představuje výrazně obtěžující charakter sledování.

Nález korelace mezi $t_{0,5}\alpha$ a $t_{0,5}\beta$, se jeví zajímavým, ale nepřítomnost korelace mezi $t_{0,5}\beta$ a $t_{0,5}\gamma$ ukazuje, že předvídat vylučování v γ fázi z parametrů β fáze je prakticky nemožné. Přitom měření koncentrací během velmi dlouhé γ fáze (s popsaným poločasem vylučování z plazmy v rozmezí asi 10–20 hodin) jednak velmi obtěžuje pacientku (je to druhý den po infuzi) a navíc nízké koncentrace kladou značné nároky na přesnou analytiku. Přesto se ukazuje, že tento aspekt by mohl mít svůj smysl. Naše výsledky tak zatím nepotvrzují korelaci mezi $t_{0,5}\gamma$ a $t_{0,5}\beta$, kterou uvádí Huizinga a spol. (11).

Biologická dostupnost paklitaxelu se tedy může u některých pacientek výrazně lišit, což potvrzuje reprodukovatelnost individuálních hodnot při opakovaných infuzích. Chceme tyto pacientky sledovat dále,

abychom zjistili, zda individuální rozdíly farmakokinetiky přetrvávají během další série infuzí a zda se tyto rozdíly projeví v odlišné účinnosti chemoterapie v delším časovém horizontu.

Zkratky

AUC – oblast pod křivkou koncentrace
C_{max} – maximální koncentrace
CL0-t – clearance v měření období
CL0- ∞ – clearance extrapolovaná
DES – diethylstilbestrol
MRT – střední residenční čas
$t_{0,5}\alpha$, $t_{0,5}\beta$ a $t_{0,5}\gamma$ – poločasy vylučování z plazmy v α , β a γ fázi eliminace
V_{ss} – objem v ustáleném stavu
SPE – extrakce na pevné fázi

*Tato studie byla podporována grantem
Interní agentury MZ ČR, číslo grantu 1A/8248.*

MUDr. Ivan Gut, DrSc.

Státní zdravotní ústav, Centrum pracovního lékařství,
Skupina pro biotransformace
Šrobárova 48, 10042 Praha 10
e-mail: ivan.gut@szu.cz

Literatura

- Rowinsky EK, Onetto N, Canetta RM, Arbuck SG. Taxol: the first of the taxanes, an important new class of antitumor agents. *Semin Oncol* 1992;19:646–662.
- Bobková, K, Gut, I, Mandys, V, Holý, A., Votruba, I., Otová, B. Antitumor activity of combined treatment with PMEDAP and docetaxel in the Prague inbred Sprague-Dawley/ cub rat strain bearing T-cell lymphoma. *Anticancer Res* 2001;21:2725–2732.
- Spencer MC, Faulds D. Paclitaxel: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in the treatment of cancer. *Drugs* 1994;48:795–845.
- Schiff PB, Fant J, Horwitz SB. Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol. *Nature* 1979;22:665–667.
- Fan W. Possible mechanisms of paclitaxel-induced apoptosis. *Biochem Pharmacol* 1999;57:1215–1221.
- Aoudjit F, Vuori K. Integrin signalling inhibits paclitaxel-induced apoptosis in breast cancer cells. *Oncogene* 2001;20:4995–5004.
- Monsarrat B, Royer I, Wright M, Cresteil T. Biotransformation of taxoids by human cytochromes P450: structure-activity relationship. *Bull Cancer* 1997;84:125–133.
- Monsarrat B, Chtelut E, Royer I, et al. Modification of paclitaxel metabolism in a cancer patient by induction of cytochrome P450 3A4. *Drug Metab Dispos* 1998;26:229–233.
- Vaclavikova R, Horský S, Simek P, Gut I. Paclitaxel metabolism in rat and human liver microsomes is inhibited by phenolic antioxidants. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2003;368:200–209.
- Eisenhauer EA, Vermorken JB. The Taxoids. Comparative clinical pharmacology and therapeutic potential. Review. *Drugs* 1998;55:5–30.
- Huizing MT, Sewberath Misser VH, Pieters RC, et al. Taxanes: a new class of antitumor agents. *Cancer Invest* 1995;13:381–404.
- Otova B, Václaviková R, Danielová V, et al. Effects of paclitaxel, docetaxel and their combinations on subcutaneous lymphomas in inbred Sprague-Dawley/Cub rats. *Eur J Pharm Sci* 2006;29: 442–450.
- Ehrlichova M, Václavikova R, Ojima I, et al. Transport and cytotoxicity of paclitaxel, docetaxel, and novel taxanes in human breast cancer cells. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2005;372:95–105.
- Gut I, Danielova V, Holubova J, Soucek P, Kluckova H. Cytotoxicity of cyclophosphamide, paclitaxel and docetaxel for tumor cell lines in vitro: effects of concentration, time and cytochrome P450-catalyzed metabolism. *Arch Toxicol* 2000;74:437–446.
- Wiley TA, Bekos EJ, Gaver RC, Duncan GF, Tay LK. High-performance liquid chromatographic procedure for the quantitative determination of paclitaxel (Taxol) in human plasma. *J Chromatog* 1993;621:231–238.