

# HOT TOPICS IN UROLOGIA



## Assorbimento Sistemico e Farmacocinetica di una Singola Dose Endovescicale di Gemcitabina dopo Resezione Transuretrale nel Carcinoma Non Muscolo-Invasivo della Vescica

Massimo Maffezzini<sup>1</sup>, Fabio Campodonico<sup>1</sup>, Matteo Puntoni<sup>2</sup>, Antonietta Martelli<sup>3</sup>, Francesca Mattioli<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dip Chirurgie Specialistiche, S.C. Urologia, E.O. Ospedali Galliera, Genova

<sup>2</sup>S.C. Oncologia Medica EO Ospedali Galliera e Unità Biostatistica Università di Genova

<sup>3</sup>Unità di Farmacologia Clinica e Tossicologia, Università di Genova

Publicato su *Anticancer Reseach* 2007;27:1179-

### Riassunto:

**Obiettivo:** Valutare l'assorbimento sistemico, la farmacocinetica e la tossicità della gemcitabina somministrata per via endovescicale ad alta concentrazione, in singola instillazione immediatamente dopo resezione transuretrale della vescica.

**Metodi:** 15 pazienti consecutivi con tumori vescicali recidivanti non muscolo-invasivi a rischio intermedio-alto sono stati candidati ad una singola instillazione intravesicale postoperatoria. L'estensione della resezione è stata arbitrariamente definita come "limitata" se  $\leq 6$  escursioni dell'ansa diatermica e come "estesa" se  $> 6$  escursioni. Otto e 7 pazienti rispettivamente sono stati sottoposti a resezione limitata ed estesa. La gemcitabina, 2000 mg disciolti in 50 ml sol salina, è stata somministrata immediatamente dopo resezione vescicale per 1 ora. La farmacocinetica del farmaco e del suo metabolita 2'-2'-difluorodeossiuridina (dFdU) è stata studiata mediante HPLC. È stata valutata la tossicità locale e sistemica, ed i pazienti sono stati seguiti con cistoscopie ed esame citologico ogni 3 mesi.

**Risultati:** Le concentrazioni maggiori di gemcitabina sono state 1.38  $\mu\text{g/mL}$  nelle resezioni limitate e 2.47  $\mu\text{g/mL}$  in quelle estese. La differenza è stata statisticamente significativa 15 minuti dopo l'instillazione (1.0 vs 2.47  $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.001$ ). Una differenza significativa è stata trovata anche fra tempo e tipo di resezione per i livelli plasmatici di gemcitabina ( $P=0.02$ ) ma non per dFdU. La tossicità è stata simile in entrambi i gruppi e mai superiore al grado 2. Nove pazienti (60%) sono liberi da malattia ad un follow-up medio di 2 anni.

**Conclusioni:** Una singola instillazione postoperatoria di gemcitabina ad alta concentrazione è sicura, e l'assorbimento sistemico è proporzionale all'estensione della resezione vescicale.

### 1. Introduzione

Il tumore della vescica è il secondo in ordine di frequenza del tratto genitourinario con 68.810 nuove diagnosi stimate e 14.000 decessi attesi per il 2008 negli Stati Uniti (1). In Europa l'incidenza della malattia è cresciuta negli ultimi 20 anni raggiungendo un tasso di mortalità fra 5 e 8/100.000 abitanti(2). In almeno i due terzi dei casi la malattia si presenta come non muscolo-invasiva

(NMIBC), coinvolgendo solo la mucosa o la lamina propria, mentre negli altri casi si presenta come infiltrante gli strati più profondi(3).

Il tumore non muscolo-invasivo viene trattato mediante resezione endoscopica (TURB) che può essere seguita da una terapia farmacologica endovescicale nei pazienti a rischio di recidiva o di progressione (4).

La recidiva e la progressione sono gli eventi clinici più importanti da valutare dopo una diagnosi di NMIBC, e variano in relazione allo stadio Ta-T1

ed al grado istologico. Le recidive raggiungono l'80% dei casi, mentre la progressione può variare dal 5% al 50%, a seconda dei parametri istologici, diametro e numero delle lesioni iniziali (5-8).

In studi randomizzati la somministrazione di BCG (bacillo di Calmette-Guérin) ha mostrato la maggiore efficacia nel prevenire o ridurre sia la recidiva che la progressione tumorale; tuttavia questo trattamento è limitatamente raccomandato nei pazienti con tumori ad alto rischio di progressione per via di potenziale tossicità locale e sistemica (9). Invece nei pazienti a basso rischio di progressione (cioè in quei pz con recidive multiple Ta,T1, G1-2), viene raccomandata l'instillazione endovesicale di agenti chemioterapici allo scopo di ridurre le recidive (4).

Diversi studi hanno valutato l'efficacia profilattica di una singola instillazione endovesicale di farmaco somministrata precocemente dopo TURB (10-14). Una meta-analisi basata su trials randomizzati ha mostrato con questa procedura una riduzione di circa il 30% delle recidive (15). L'EAU (European Association of Urology) raccomanda la singola instillazione endovesicale postoperatoria nei tumori vescicali a basso rischio, o come atto iniziale di un ciclo adiuvante endovesicale nelle forme a rischio intermedio (4).

La Gemcitabina (2',2'-difluoro-2'-deoxycytidine, Gemzar, Eli Lilly & Co.) è un antimetabolita pirimidinico che è entrato a far parte del protocollo chemioterapico standard nel trattamento del tumore vescicale metastatico, in associazione ad altri farmaci o come singolo agente (16). Per quanto riguarda il tumore NMIBC la gemcitabina è stata utilizzata per via intravesicale evidenziando tossicità lieve ed una significativa attività profilattica (17-23). L'assorbimento sistemico del farmaco è stato studiato in pazienti trattati secondo schedule di instillazione settimanale e, in un unico report, come singola somministrazione precoce postoperatoria (24). Sebbene sia stata evidenziata tollerabilità del farmaco somministrato anche dopo TURB, questo dato non è riproducibile nella pratica clinica poiché la concentrazione utilizzata è stata inferiore rispetto a quella raccomandata di 40 mg/mL.

Dopo uno studio preliminare (25), riportiamo un serie di pazienti studiati con i seguenti scopi: (A) documentare l'assorbimento sistemico a la farmacocinetica, (B) valutare l'effetto dell'estensione di una resezione vescicale endoscopica, specificamente una piccola TUR verso una estesa, e (C) stabilire la tossicità locale e sistemica della gemcitabina per via endovesicale somministrata alla dose raccomandata subito dopo TURB.

## 2. Materiali e metodi

### 2.1 Eleggibilità

Pazienti con anamnesi positiva per almeno un episodio di tumore vescicale Ta-T1 (NMIBC) di basso o alto grado (G1-2), sono stati candidati ad una singola instillazione di gemcitabina dopo TURB. Criteri addizionali sono stati performance status 0-2 sec WHO, adeguata funzione ematopoietica ( $>3000$  WBC), normale creatinina sierica ( $< 1.2$ ), normali transaminasi e bilirubina. Criteri di esclusione sono stati presenza di Cis, malattia muscolo invasiva. I pazienti sono stati valutati anche per accertare assenza di stenosi uretrali, precedenti interventi all'uretra o alla prostata, esposizione a radiazioni pelvico-addominali, infezioni urinarie. Il consenso informato è stato acquisito da tutti i pazienti e lo studio è stato approvato dal Comitato Etico Istituzionale.

### 2.2 Farmaco e piano di trattamento

La gemcitabina è stata preparata come raccomandato negli studi precedenti (17-23). In particolare, 2000 mg di farmaco sono stati diluiti in 50 ml di soluzione salina (0.9%) ottenendo la dose di saturazione 40 mg/mL. La TURB è stata registrata per rivalutare l'estensione della resezione. La TURB è stata definita come piccola (Small) se esaurita in un numero di ansate non superiore a 6, ed estesa (Large) per un numero maggiore di ansate richiesto per la rimozione dei tumori e della base di impianto. Dopo emostasi completa il farmaco è stato instillato ed il catetere chiuso per 60 min. Tutti i pazienti hanno ricevuto una anestesia epidurale con restrizione dell'idratazione ev per limitare la diluizione delle urine.

### 2.3 Modalità di Prelievo

I campioni di sangue sono stati ottenuti mediante catetere venoso periferico e raccolti in provette eparinate prima dell'instillazione del farmaco e dopo 15, 30, 60, 90 e 120 minuti. A ciascun tempo ad ogni prelievo (4 ml) di sangue, venivano aggiunti 0.04 ml di una soluzione contenente tetraidrouridina (THU, 10 mg/ml) inibitore della citidina deaminasi (10 mg/ml). Ciascun campione era

centrifugato per 10 minuti a 1000 g e conservato a  $-20^{\circ}\text{C}$  fino alla determinazione analitica. La determinazione analitica della gemcitabina e del suo metabolita 2',2'-difluorodeossiuridina (dFdU), è stata effettuata con metodica validata HPLC. La concentrazione della gemcitabina e del metabolita è stata dosata utilizzando la tecnica descritta da K. B. Freeman et al., con un apparato HPLC Kontron modello 325, dotato di pompa a bassa pressione, connesso a un rivelatore spettrofotometrico Bio-Tek modello 535 e colonna cromatografica Adsorbosphere NH2 (5  $\mu\text{m}$ , 250 x 4 mm I.D.) fornita di precolonna; l'analisi dei risultati è stata effettuata mediante software di integrazione Kroma System 2000 (Bio-Tek Instruments, Milano, Italia).

#### 2.4 Validazione del Metodo

La precisione e l'accuratezza del metodo analitico sono state determinate analizzando un pool di campioni indipendenti di plasma bianco contenenti 2-deossicitidina come standard interno alla concentrazione di 8 mg/ml e una curva di calibrazione nel range di concentrazione prescelto di 0.05-2.4  $\mu\text{g/ml}$  (limite di quantificazione LOQ = 0.05  $\mu\text{g/ml}$ ).

I punti di controllo di qualità scelti (LOQ 0.05, QC 0.1, QC 1.0, QC 2.0  $\mu\text{g/ml}$ ), sono stati analizzati in doppio in tre differenti giorni di lavoro e sono stati sottoposti ad analisi entro e tra-gruppi. I campioni con concentrazioni superiori al valore massimo della curva di calibrazione venivano rianalizzati dopo diluizione del campione.

La precisione è stata calcolata usando il test ANOVA; l'accuratezza del metodo con la formula:  $\text{BIAS} = (\text{media} - \text{concentrazione nominale}) / (\text{concentrazione nominale} \times 100)^{26}$ .

#### 2.5 Analisi Farmacocinetica

Sono stati calcolati: la Cmax per osservazione diretta della curva concentrazione-tempo, l'area sotto la curva concentrazione-tempo estrapolata ad infinito e calcolata mediante la regola dei trapezoidi, la costante di eliminazione (Kel) della fase terminale della curva concentrazione-tempo mediante regressione lineare ed infine l'emivita ( $t_{1/2}$ ).

#### 2.6 Valutazione della Tossicità

La tossicità è stata valutata secondo i parametri Common Toxicity Criteria versione 3.0 (27). Gli effetti avversi locali sono stati ugualmente registrati, benchè attenuati dal prolungamento dell'anestesia epidurale al risveglio del paziente e nelle prime ore. Gli effetti sistemici sono stati valutati clinicamente e, dopo la dimissione, mediante intervista telefonica. Gli esami emtochimici di controllo sono stati eseguiti preoperatoriamente, in la giornata p.o. e dopo 1 settimana.

#### 2.7 Analisi Statistica

Per testare le differenza fra concentrazioni plasmatiche medie di gemcitabina e dFdU nel tempo fra small e large TURB è stata utilizzato un modello misto per misure ripetute impiegando la tecnica di Kenward-Roger per determinare i gradi di libertà del denominatore (PROC MIXED; SAS Institute Inc., Cary, NC)28,29. Sono stati impiegati tests di significatività a due code e un valore di P inferiore o uguale a 0.05 è stato scelto per definire la significatività statistica. I valori di P derivanti da tests multipli sono stati aggiustati mediante la correzione di Benjamini & Hochberg 30. Tutte le analisi sono state eseguite mediante l'utilizzo dei softwares SPSS versione 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) e SAS versione 9.0 (SAS Institute).

**Tavola 1. Caratteristiche dei pazienti**

N° di Pazienti	15
Età mediana, (range)	75 (55-83)
No. di maschi	12
Istologia, no. di pazienti	
Stadio	
Ta	11
T1	4
Grado	
G1	8
G2	6
G3	1
Precedenti trattamenti, n° pazienti	
Chemioterapia	6
BCG	Nessuno

BCG = bacillo Calmette-Guérin.

### 3. Risultati

demografici, lo stadio e il grado di malattia ed i precedenti trattamenti.

15 pazienti sono stati reclutati da ottobre 2005 a marzo 2007. Tutti hanno completato lo studio. In Tavola 1 sono riassunti i dati

**Tavola 2. Concentrazioni plasmatiche di gemcitabina e dFdU a 15, 30, 60, 90, e 120 minuti dopo somministrazione endovesicale**

T prelievo	Gemcitabina ( $\mu\text{g/mL}$ )					dFdU ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	15	30	60	90	120	15	30	60	90	120
Pzn°										
1	0.70	1.01	1.30	0.35	0	0.51	1.13	2.65	4.00	3.72
2	1.82	1.50	1.44	0.62	0.25	0.82	1.81	4.41	4.98	4.61
3	0.28	0.43	0.47	0.11	0.11	0.47	1.10	2.68	3.06	5.01
4	2.58	2.59	1.50	0	0	2.97	4.55	5.89	8.32	7.17
5	1.32	1.50	1.12	0.29	0.08	0.97	1.95	3.99	5.18	5.29
6	3.33	2.98	2.61	0.98	0.66	2.19	3.16	5.99	12.37	6.67
7	0.78	0.76	0.39	0.08	0	0.94	0.97	1.88	1.87	1.69
8	4.26	3.71	2.80	2.55	0.66	3.24	2.83	6.44	5.68	5.05
9	2.32	1.98	1.43	1.39	0.60	1.14	3.58	2.49	8.84	8.57
10	2.04	1.81	1.47	0.63	0.54	1.57	2.12	4.85	5.01	5.30
11	2.17	1.69	1.48	0.20	0	1.46	3.51	5.87	5.10	5.05
12	0.31	0.91	0.34	0.29	0.32	1.68	1.82	2.14	2.20	2.93
13	0.72	1.82	0.71	0.46	0	0.55	0.97	2.40	2.73	2.68
14	1.34	1.36	2.08	0.51	0	0.96	2.40	2.92	4.18	4.34
15	2.09	2.02	1.12	0.23	0	0.45	0.48	1.44	1.46	1.46
Media	1.74	1.74	1.35	0.58	0.21	1.33	2.16	3.74	5.00	4.64
SD	1.13	0.86	0.73	0.66	0.27	0.88	1.17	1.71	2.94	1.96
SE	0.29	0.22	0.19	0.17	0.07	0.23	0.30	0.44	0.76	0.51

SD = deviazione standard; SE = errore standard della media.

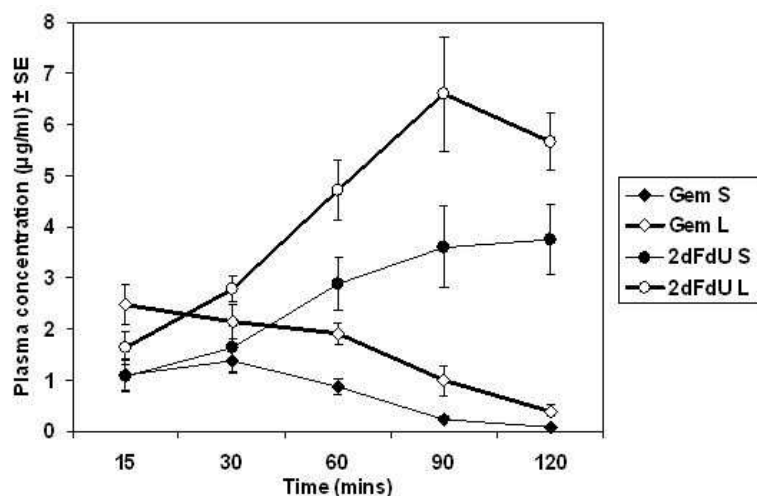
#### 3.1 Studio Farmacocinetico

In Tavola 2 vengono mostrate le concentrazioni plasmatiche di gemcitabina e del suo metabolita inattivo nei campioni ematici ottenuti a 15, 30, 60, 90 e 120 minuti dopo l'instillazione endovesicale. In Tavola 3 sono rappresentati i parametri farmacocinetici di gemcitabina. La Tavola 4 mostra l'analisi delle misure seriate delle concentrazioni plasmatiche medie di gemcitabina e dFdU in 8 e 7 pazienti sottoposti rispettivamente a TURB

limitata ed estesa. Le concentrazioni plasmatiche di gemcitabina sono diminuite rapidamente, già nel tempo di permanenza in vescica del farmaco, mentre le concentrazioni di dFdU sono progressivamente aumentate durante i primi 60 minuti dall'instillazione, ed in tutti i pazienti mantenevano ancora un andamento di crescita a 90 min, cioè 30 minuti dopo lo svuotamento vescicale (Figura 1). Entrambi i trends di incremento temporale per dFdU e quello in diminuzione per gemcitabina si sono rivelati statisticamente altamente significativi ( $P$  per tempo  $< 0.0001$ ). I livelli

## medi di dFdU nel plasma nelle TURB limitate

Figura 1. Concentrazioni medie di gemcitabina (Gem) e del metabolita (2dFdU) nel tempo, nelle piccole (S) ed estese (L) resezioni



ed estese sono stati statisticamente differenti ( $P < 0.05$ ) a 60, 90, e 120 minuti, mostrando la più alta differenza a 90 min. Per la gemcitabina è stata evidenziata un'elevata variabilità inter-individuale per quanto

riguarda il picco di concentrazione. Nei pazienti 4, 6 e 8 sono stati rilevati i livelli più alti di dFdU, a conferma dell'elevato assorbimento di gemcitabina. L'analisi statistica ha mostrato una differenza significativa fra i livelli medi raggiunti dopo TURB limitata ed estesa. La differenza è stata più marcata a 15 min dopo l'instillazione (1.10 vs 2.47 mg/mL), ed è stata mantenuta fino a 120 min (0.06 vs 0.39 mg/mL). Contrariamente, la differenza tra i due gruppi è stata più marcata per la dFdU nelle misurazioni tardive, aumentando da 1.07 g/mL vs 1.63 a 15 min, fino a 3.74 g/mL vs 5.66 a 2 h. L'interazione fra tempo e tipo di TURB è stata significativa solo per gemcitabina ( $P = 0.02$ ) ma non per dFdU ( $P = 0.2$ ). In altre parole, le variazioni delle concentrazioni medie sono state statisticamente significative tra TURB limitate ed estese solo per gemcitabina, non per dFdU, in cui i livelli medi hanno mostrato variazioni simili nei due gruppi di pazienti.

Tavola 3. Parametri farmacocinetici di gemcitabina dopo instillazione endovesicale di 40 mg/mL ed estensione della TURB (small and large).

N°	TURB	$C_{max}$ (µg/mL)	$AUC_{\infty}$ (µg/mLxmin)	$T_{1/2}$ (min)	$K_{el}$
1	S	1.30	82.77	.86	0.044
2	L	1.82	135.47	23.9	0.029
3	S	0.43	35.36	14.38	0.048
4	L	2.59	—	—	—
5	S	1.50	99.14	15.97	0.043
6	L	3.33	263.74	30.39	0.023
7	S	0.78	43.82	14.93	0.040
8	L	4.26	345.34	28.87	0.024
9	S	2.32	214.52	48.12	0.014
10	L	2.04	174.65	41.25	0.017
11	L	2.17	120.87	10.45	0.066
12	S	0.91	65.15	35.91	0.019
13	S	1.82	86.95	30.39	0.023
14	L	2.08	146.57	24.06	0.029
15	S	2.09	117.35	23.73	0.02

I picchi più elevati di concentrazione plasmatica sono nei pazienti 8 (4.26 µg/mL = 14.21 µM) e 6 (3.33 µg/mL = 11.11 µM) sottoposti a large TURB, e nel paziente 4 (2.59 µg/mL = 8.64 µM) dopo small TURB.

AUC = area under the curve; S = small; L = large.

Tavola 4. Analisi seriata delle concentrazioni di gemcitabina e dFdU a 15, 30, 60, 90 e 120 minuti dopo instillazione intravesicale di 40 mg/mL, in large e small TURB

	Media $\pm$ SD	P per TURB	P per tempo	P per interazione
<b>Gem (<math>\mu</math>g/mL)</b>				
<i>15 min</i>				
Small TURB	1.10 $\pm$ 0.84	<b>0.001</b>	< <b>0.0001</b>	<b>0.02</b>
Large TURB	2.47 $\pm$ 1.00			
<i>30 min</i>				
Small TURB	1.38 $\pm$ 0.73	0.03		
Large TURB	2.15 $\pm$ 0.87			
<i>60 min</i>				
Small TURB	0.87 $\pm$ 0.45	<b>0.005</b>		
Large TURB	1.90 $\pm$ 0.60			
<i>90 min</i>				
Small TURB	0.23 $\pm$ 0.15	0.03		
Large TURB	0.98 $\pm$ 0.79			
<i>120 min</i>				
Small TURB	0.06 $\pm$ 0.11	0.3		
Large TURB	0.39 $\pm$ 0.30			
<b>dFdU (<math>\mu</math>g/mL)</b>				
<i>15 min</i>				
Small TURB	1.07 $\pm$ 0.87	0.5	< <b>0.0001</b>	0.24
Large TURB	1.63 $\pm$ 0.84			
<i>30 min</i>				
Small TURB	1.62 $\pm$ 1.28	0.2		
Large TURB	2.77 $\pm$ 0.69			
<i>60 min</i>				
Small TURB	2.88 $\pm$ 1.43	0.04		
Large TURB	4.71 $\pm$ 1.54			
<i>90 min</i>				
Small TURB	3.60 $\pm$ 2.25	<b>0.001</b>		
Large TURB	6.59 $\pm$ 2.96			
<i>120 min</i>				
Small TURB	3.74 $\pm$ 1.96	0.03		
Large TURB	5.66 $\pm$ 1.48			

Le concentrazioni massime di gemcitabina sono state 1.38  $\mu$ g/mL nelle small TURB e 2.47  $\mu$ g/mL nelle large TURB.

P values sono statisticamente significativi dopo correzione sec Benjamini per test multipli  
Gem = gemcitabina; SD= deviazione standard.

### 3.2 Tossicità

Nei soggetti sottoposti a TURB minima l'effetto avverso principale è stato vomito di grado 2 in un paziente, il giorno dopo l'intervento. Altri sintomi registrati in questo gruppo sono stati vomito G1 e disuria in due pazienti. Nelle TURB estese un paziente ha manifestato una transitoria leucopenia G2. Le transaminasi sono state nel range di normalità in tutti i tests. Sintomi locali non sono stati riscontrati.

### 3.3 Follow-up dei pazienti

Tutti i pazienti sono stati seguiti con cistoscopie ed esame citologico urinario periodici, ogni 3 mesi. Il follow-up medio è stato 24 mesi (range 17-35 mesi, mediano 26.5 m). Recidiva di tumore è stata rilevata in 6 pazienti su 15 (40% recurrence rate).

## 4. Discussione

Diversi studi di fase I condotti su gemcitabina intravesicale hanno determinato la concentrazione raccomandata di 40 mg/mL, che corrisponde a 2000 mg diluiti in 50 mL di sol salina (17-19). Successivamente tale concentrazione è stata mantenuta in studi di fase II volti ad indagare l'attività profilattica sulle recidive o l'effetto ablativo di piccole lesioni marker (20-23). Inoltre l'assorbimento sistemico di dosaggi differenti di gemcitabina è stato valutato sia nell'impiego mediante schedula standard di somministrazione endovesicale settimanale, sia nell'immediata instillazione postoperatoria (18-24). Laufer e coll. hanno studiato uno schema dose-escalation di 4 concentrazioni di farmaco, da 5 a 40 mg/mL,

somministrato per 6 settimane. La gemcitabina plasmatica è stata misurabile solo nei pazienti trattati con il più alto dosaggio cioè 40 mg/mL, ed i livelli plasmatici osservati sono stati comunque bassi e transitori. Lo scarso assorbimento plasmatico è stato attribuito alla clearance dell'enzima citidina deaminasi (CDA) presente negli eritrociti. Tuttavia i livelli plasmatici significativi del metabolita dFdU costituiscono prova che un certo assorbimento sistemico di gemcitabina è avvenuto. Benchè sia stata rimarcata una importante variabilità tra pazienti, la curva delle concentrazioni plasmatiche ha raggiunto il picco a 15' circa, ed un successivo decremento del 50% a 30'. I fattori che concorrono a tale rapido assorbimento attraverso la parete vescicale sono il relativamente basso peso molecolare, la concentrazione di farmaco, il volume di diluizione ed il tempo di esposizione. Palou e coll. hanno condotto l'unico studio di farmacocinetica utilizzando gemcitabina somministrata immediatamente dopo TURB (24). 10 pz sono stati trattati con 1500 o 2000 mg diluiti in 100 mL di sol salina, rispettivamente ottenendo concentrazioni di 15 e 20 mg/mL, instillate in vescica per 1 ora. La variabilità inter-individuale è emersa anche in questo studio, ma in 7 pazienti su 10 il picco di assorbimento plasmatico è stato raggiunto al termine del mantenimento vescicale, cioè a 60 min. In confronto con lo studio di Laufer i picchi plasmatici raggiunti sono stati più elevati; tuttavia, nonostante la facilità di assorbimento determinata dalla ferita vescicale dovuta alla TURB, è stato necessario un intervallo di tempo maggiore per il raggiungimento dei picchi plasmatici. Fattori quali la relativa dose minore iniziale (cioè dimezzata o inferiore) ed il volume di diluizione (doppio rispetto a quello raccomandato) sono stati cruciali. Oltre al peso molecolare del farmaco, la concentrazione e il tempo di esposizione, soprattutto l'estensione della resezione endoscopica gioca un ruolo determinante. L'estensione varia in base al numero ed alla superficie delle lesioni tumorali. Per questo al fine di valutare l'impatto dell'area di resezione vescicale abbiamo valutato distintamente le resezioni limitate e quelle estese. E' stata trovata una correlazione fra l'estensione della TURB rispetto all'assorbimento di farmaco mentre non vi sono state differenze in termini di effetti avversi locali o sistemici, anche se l'anestesia epidurale fornisce un effetto protettivo. Le concentrazioni plasmatiche di gemcitabina misurate nel nostro studio sono state basse, piuttosto inferiori rispetto alla AUC descritta nella somministrazione endovenosa, come ugualmente riportato da Palou e coll.

La instillazione endovesicale con 40 mg/dL ha determinato un picco plasmatico seguito da una

discesa costante della concentrazione di farmaco, che persiste fino a 2 ore. Tra pazienti sottoposti a TURB limitata ed estesa è stata rilevata una differenza significativa (Tavola 4). I picchi plasmatici medi sono stati raggiunti dopo TURB estesa, e ad intervallo precoce (15 min). Contrariamente, nel gruppo a TURB limitata, il picco plasmatico osservato è stato significativamente più basso e rilevabile in maniera precoce solo in 2 pazienti su 8, mentre è stato raggiunto a 30 min in 3 pz e a 60 min in altri 3. Allo stesso modo le misure di farmacocinetica hanno evidenziato il rapido assorbimento di gemcitabina in TURB estese, mentre nelle piccole resezioni vescicali il tempo necessario per l'assorbimento è stato doppio, cioè 30 min anziché 15 (Fig. 1). Nel nostro studio è stata riscontrata, come in quello di Palou, una relativa variabilità interindividuale, legata al rapido metabolismo della gemcitabina nel metabolita inattivo dFDU da parte dell'enzima CDA, presente in molti tessuti dell'organismo umano (31). Inoltre è stata descritta una emivita differente della gemcitabina legata al sesso (32).

Un limite del nostro studio è rappresentato dalla definizione di TURB limitata ed estesa. Può sembrare una definizione arbitraria e di difficile riproducibilità, ma anche lo studio di Palou è stato basato su un numero prestabilito di biopsie vescicali. Tuttavia i risultati osservati in termini di assorbimento differenziato hanno significatività statistica, suggerendo la potenziale validità del modello che potrebbe essere replicato in altri studi. In conclusione, una somministrazione postoperatoria immediata di gemcitabina alla dose raccomandata, 40 mg/mL per 1 ora, è fattibile; l'assorbimento sistemico del farmaco è stato proporzionale all'estensione della TURB; i picchi di concentrazione plasmatica sono stati raggiunti precocemente dopo 15 min e inferiori ai livelli relativi all'infusione endovenosa; il farmaco ha evidenziato un rapido decremento plasmatico dopo l'instillazione e la tossicità è stata lieve.

## Ringraziamenti

Si ringraziano Anna Nadia Paoletti, Direttore Infermieristico, Stefania Tamagno e Anna Pinto del Servizio di Endoscopia Urologica e Alessandra Vagge per l'assistenza segretariale.

## Bibliografia

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al: Cancer statistics 2008: CA Cancer J Clin 58:71-96, 2008
- [2] Pelucchi C, Bosetti C, Negri E, et al: Mechanisms of disease: the epidemiology of bladder cancer. Nat Clin Pract Urol 3:327-340, 2006
- [3] Maffezzini M, Audisio R, Pavone-Macaluso M, et al: Bladder cancer. Crit Rev Oncol Hematol 27:151-153, 1998
- [4] Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, et al: EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. Eur Urol 71:718-22, 2008
- [5] Lee R, Droller M. The natural history of bladder cancer: implications for therapy. Urol Clin North Am 27:1-13, 2000
- [6] Kiemeny LA, Witjes JA, Heijbroek RP, et al: Predictability of recurrent and progressive disease in individual patients with primary superficial bladder cancer. J Urol 150:60-64 1993
- [7] Parmar MKB, Freedman LS, Hargreave TB, et al: Prognostic factors for recurrence and followup policies in the treatment of superficial bladder cancer: report from the British Medical Research Council Subgroup on Superficial Bladder Cancer (Urological Cancer Working Party). J Urol 142:284-288, 1989
- [8] Sylvester RJ, van der Meijden APM, Oosterlinck W, et al: Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. Eur Urol 49:466-477, 2006
- [9] Sylvester RJ, van der Meijden APM, Lamm DL: Intravesical bacillus Calmette-Guérin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. J Urol 168:1964-1970, 2002
- [10] Oosterlinck W, Kurth KH, Schroder F, et al: A prospective European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Group randomized trial comparing transurethral resection followed by a single intravesical instillation of epirubicin or water in single stage Ta, T1 papillary carcinoma of the bladder. J Urol 149:749-752, 1993
- [11] Tolley DA, Parmar MKB, Grigor KM, et al: The effect of intravesical mitomycin C on recurrence of newly diagnosed superficial bladder cancer: a further report with 7 yr of follow-up. J Urol 155:1233-1238, 1996
- [12] Ali-el-Dein B, Nabeeh A, el-Baz M, et al: Single-dose versus multiple instillations of epirubicin as prophylaxis for recurrence after transurethral resection of pTa and pT1 transitional-cell bladder tumours: a prospective, randomized controlled study. Br J Urol 79:731-715, 1997
- [13] Solsona E, Iborra I, Ricos JV, et al: Effectiveness of a single immediate mitomycin C instillation in patients with low risk superficial bladder cancer: short and long-term follow-up. J Urol 161:1120-1123, 1999
- [14] Rajala P, Kaasinen E, Raitanen M, et al; Finnbladder Group: Perioperative single dose instillation of epirubicin or interferon-alpha after transurethral resection for the prophylaxis of primary superficial bladder cancer recurrence: a prospective randomized multicenter study—Finnbladder III long-term results. J Urol 168:981-985, 2002
- [15] Sylvester RJ, Oosterlinck W, van der Meijden APM: A single immediate postoperative instillation of chemotherapy decreases the risk of recurrence in patients with stage Ta T1 bladder cancer: a meta-analysis of published results of randomized clinical trials. J Urol 171:2186-2190, 2004
- [16] Von der Maase H, Sengelov L, Roberts JT, et al: Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, plus cisplatin in patients with bladder cancer. J Clin Oncol 23:4602-4608, 2005
- [17] Dalbagni G, Russo P, Sheinfeld J, et al: Phase I trial of intravesical gemcitabine in bacillus Calmette-Guérin-refractory transitional-cell carcinoma of the bladder. J Clin Oncol 20:3193-3198, 2002
- [18] Laufer M, Ramalingam S, Schoenberg MP, et al: Intravesical gemcitabine therapy for superficial transitional cell carcinoma of the bladder: a phase I and pharmacokinetic study. J Clin Oncol 21:697-703, 2003
- [19] De Berardinis E, Antonini G, Peters GJ, et al: Intravesical administration of gemcitabine in superficial bladder cancer: a phase I study with pharmacodynamic evaluation. BJU Int 93:491-494, 2003
- [20] Gontero P, Casetta G, Maso G, et al: Phase II study to investigate the ablative efficacy of intravesical administration of gemcitabine in intermediate-risk superficial bladder cancer (SBC). Eur Urol 46:339-344, 2004
- [21] Serretta V, Galuffo A, Pavone C, et al: Gemcitabine in intravesical treatment of Ta-T1 transitional cell carcinoma of bladder:

- phase I-II study on marker lesions. *Urology* 65:65-69, 2005
- [22] Maffezzini M, Campodonico F, Canepa G, et al: Short-schedule intravesical gemcitabine with ablative intent in recurrent TA-T1, G1-G2, low or intermediate-risk transitional cell carcinoma of the bladder. *Eur Urol* 51:956-961, 2007
- [23] Bartoletti R, Cai T, Gacci M, et al: Intravesical gemcitabine therapy for superficial transitional cell carcinoma: results of a phase II prospective multicenter study. *Urology* 66:726-731, 2005
- [24] Palou J, Carcas A, Segarra J, et al: Phase I pharmacokinetic study of a single intravesical instillation of gemcitabine administered immediately after transurethral resection plus multiple random biopsies in patients with superficial bladder cancer. *J Urol* 172:485-488, 2004
- [25] Campodonico F, Mattioli M, Manfredi V, et al: Pharmacokinetics and toxicity of an early single intravesical instillation of gemcitabine after endoscopic resection of superficial bladder cancer. *Anticancer Res* 27:1179-1183, 2007
- [26] Freeman KB, Anliker S, Hamilton M, et al: Validated assay for the determination of gemcitabine in human plasma and urine using high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr B* 665:171-181, 1995
- [27] National Cancer Institute-Common Terminology Criteria for Adverse Events, v. 3.0, revised June 10, 2003. <http://ctep.cancer.gov>
- [28] ICH Harmonised tripartite guidelines: validation of analytical procedures: methodology 6 Nov 1996. FDA Fed Reg 62:25634-15635, 1997
- [29] Kenward MG, Roger JH: Small sample inference for fixed effects from restricted maximum likelihood. *Biometrics* 53:983-997, 1997
- [30] Benjamini Y, Hochberg Y: Controlling the false discovery rates: a practical and powerful approach to multiple testing. *J Roy Stat Soc B* 35:289-300, 1995
- [31] Watanabe S, Uchida T: Expression of cytidine deaminase in human solid tumors and its regulation by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *Biochim Biophys Acta* 1312:99-104, 1996
- [32] Sugiyama E, Kaniwa N, Kim SR, et al: Pharmacokinetics of gemcitabine in Japanese cancer patients: the impact of a cytidine deaminase polymorphism. *J Clin Oncol* 25:32-42, 2007
- [33]