

STUDIO FARMACOCINETICO PER DETERMINARE LA MODALITA' DI SOMMINISTRAZIONE PIU' IDONEA PER LA GEMCITABINA ENDOVESCALE

Paolo Gontero , Luigi Cattel , Tonia C. Paone , Giovanna Berta , Chiara Fiorito , Paola Milla , Francesco Carbone , Claudio Medana , Alessandro Tizzani

Urologia 1, Università degli Studi di Torino

Dipartimento di Farmacologia, Università degli Studi di Torino

Comunicazione orale AUA 2008

Accettato per la presentazione EAU 2009

Razionale dello studio farmacocinetico nella somministrazione intravescicale di gemcitabina

Attività clinica e tollerabilità

- Studi di fase I-II hanno dimostrato che 2000 mg è il dosaggio ottimale per l'attività e la tollerabilità

Dalbagni G , 2002 ; De Berardinis E ,
2005

Contesto farmacocinetico

Un solo studio in vitro ha dosato la gemcitabina a livello del tessuto tumorale rilevando delle basse concentrazioni

-Assorbimento plasmatico trascurabile (ma i dati farmacocinetici sono stati desunti Utilizzando tecnologie a bassa sensibilità (HPLC-UV)

Mattioli F , 2005

Razionale di uno studio farmacocinetico sulla somministrazione intravesicale di gemcitabina

Diversi schemi di somministrazione nei diversi studi

In precedenti studi la gemcitabina viene somministrata a pH, volume e tempo di instillazione, differenti.

Quesiti ancora in discussione

- Volume ottimale? (50 o 100 ml?)
- PH ottimale? (soluzione tamponata o no?)
- Durata di instillazione ottimale: 1 o 2 ore?

pH della soluzione

Potrebbe influenzare le concentrazioni intratumorali e plasmatiche di gemcitabina

pH=3.5

- 50% della molecola è ionizzata, pertanto facilmente diffusibile nelle cellule (tumore)
- aumento di effetti collaterali (cistite chimica) dovuti al basso pH?

pH= 5.5

- il 99% della molecola è nella forma non-ionizzata, e pertanto facilmente diffusibile nella circolazione sistemica con tossicità plasmatica
- minori effetti collaterali locali?

Durata dell'instillazione

Potrebbe influenzare le concentrazioni di dFdCTP

1 ora



- *Dalbagni g. et al J Clin Oncol. 2002 Aug 1;20(15):3185-6*
- *Mattioli F. et al. Anticancer Res. 2005 May-Jun;25(3c):2493-6*

2 ore



- *Menachem Laufer. et al. J Clin Oncol, Vol 21, Issue 4 (February), 2003: 697-703*
- *De Berardinis et al. BJU Int. 2004 Mar;93(4):491-4*

Alcuni pazienti non riescono a trattenere il farmaco in vescica per 2 ore

Volume

Potrebbe influenzare le concentrazioni intratumorali e plasmatiche

Solubilità della gemcitabina: 15-20 mg/ml



A pH 3,5 50% ionizzata e quindi più solubile anche a concentrazioni di 40 mg/ml

A pH 5,5 99% non-ionizzata e quindi meno solubile: alla concentrazione di 40 mg/ml precipita

PROFARMACO

Trasporto transmembrana

Mediato da carrier

CELLULA

dFdC

Diffusione semplice

La maggior parte è fosforilata da

deossicitidine cinasi

Parte è inattivata dalla

deossicitidina deaminasi

dFdCT= metabolita attivo

dFdU= metabolita inattivo

Obiettivi

Determinare il miglior protocollo di somministrazione definendo i valori ottimali di:

1. concentrazione della soluzione di Gemcitabina (20 mg/ml o 40 mg/ml)
1. pH della soluzione da instillare: pH 2.7-3.5
1. durata dell'instillazione: 1 ora o 2 ore

L'analisi farmacocinetica è effettuata utilizzando un **sistema cromatografico HPLC combinato con uno spettrometro di massa (HPLC-MS)**, una metodica molto sensibile per individuare concentrazioni molto basse di farmaco con l'obiettivo di determinare:

1. Il profilo farmacocinetico plasmatico della dFDC e della dFDU
2. La presenza ed il livello di dFDC, dFDU in frammenti di tessuto vescicale
3. La concentrazione della dFDC e della dFDU nel liquido di svuotamento

Disegno dello studio:

farmacocinetico di fase II con lesione marker

Flow chart

Sei bracci (1, 2, 3, 4, 5, 6) di 3 pazienti ognuno per un totale di 18 pazienti con carcinoma a cellule transizionali (TCC)



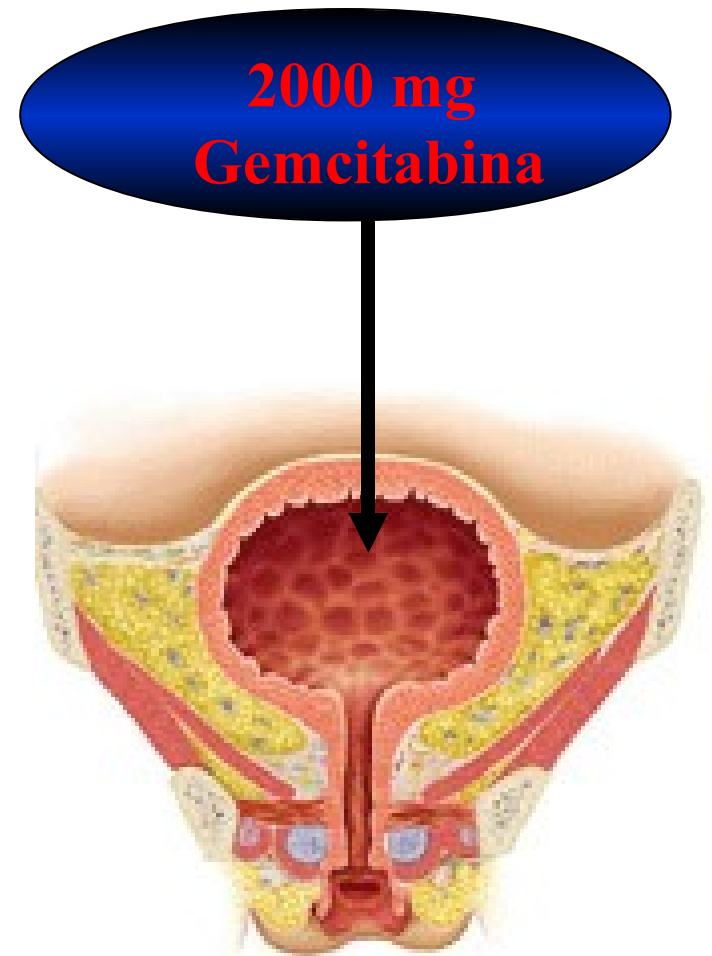
Somministrazione intravesicale di gemcitabina prima della resezione endoscopica transuretrale (TUR)



raccolta dei campioni di sangue e urina



Biopsia a freddo del tessuto tumorale, base impianto e tessuto macroscopicamente sano



Prelievi

Plasma



0'(basale)
30'-60'(metà trattamento)
60'-120'(fine trattamento)
120'-180' (1 h dopo fine trattamento)

Urine



0'(basale)
60'-120'(svuotamento vescica)

**Campioni
tissutali**



- Tumorale
- Base impianto
- Mucosa “sana”, prelevato (1-2g) dalla parete opposta della vescica

BRACCI DI TRATTAMENTO

1: gemcitabina 2000 mg in 50 ml (40 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 1 h

2: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 1h

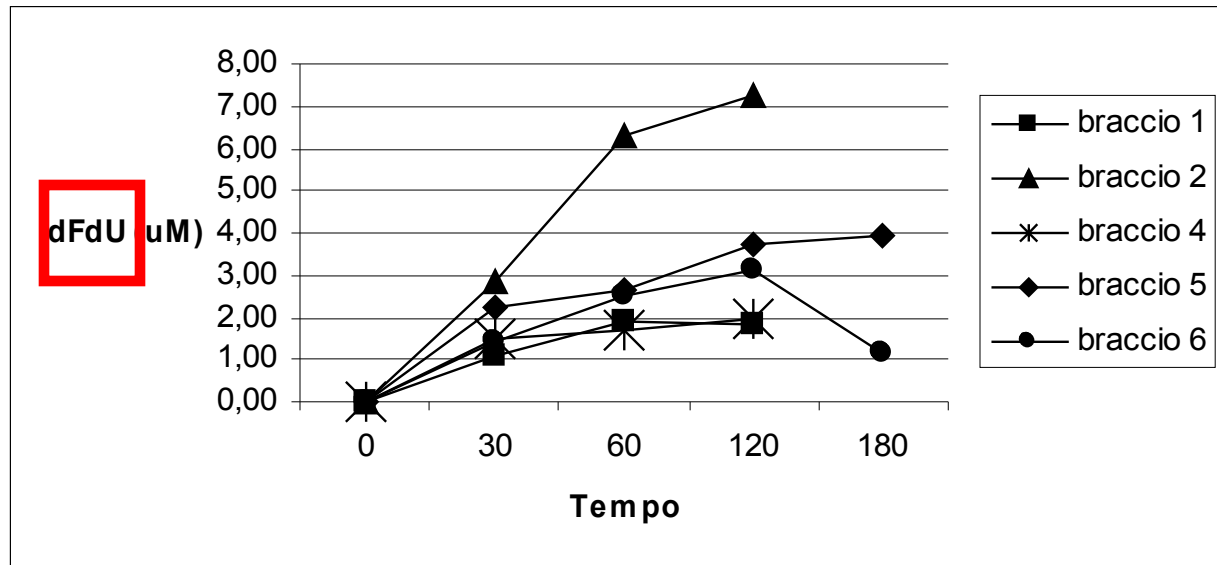
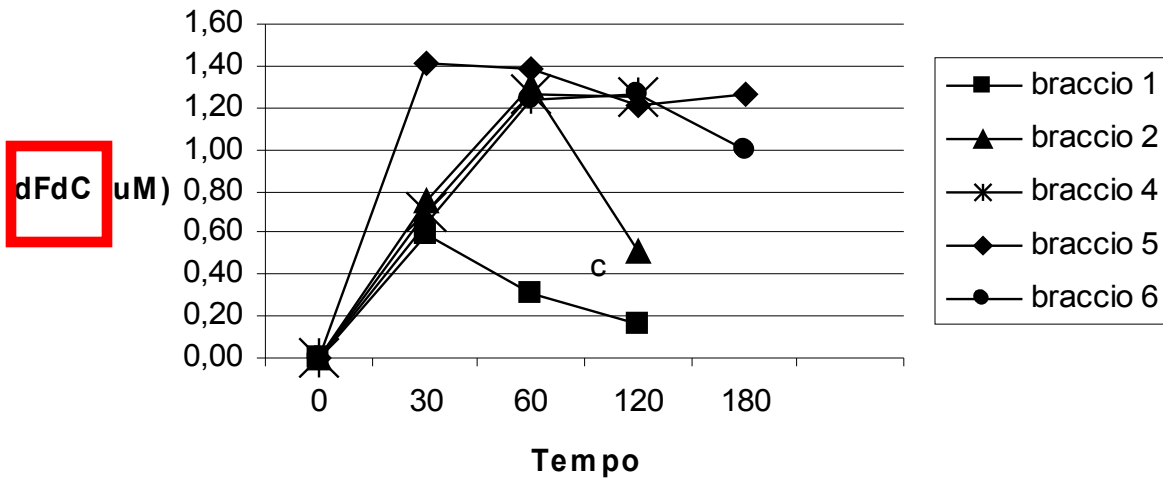
~~3: gemcitabina 2000 mg in 50 ml (40 mg/ml) a pH 5,5 per 1 h~~

4: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 5,5 per 1 h

5: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 2 h

6: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 5,5 per 2 h

RISULTATI: Plasma



BRACCI DI TRATTAMENTO: variabile volume

1: gemcitabina 2000 mg in 50 ml (40 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 1 h

2: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 1h

~~3: gemcitabina 2000 mg in 50 ml (40 mg/ml) a pH 5,5 per 1 h~~

4: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 5,5 per 1 h

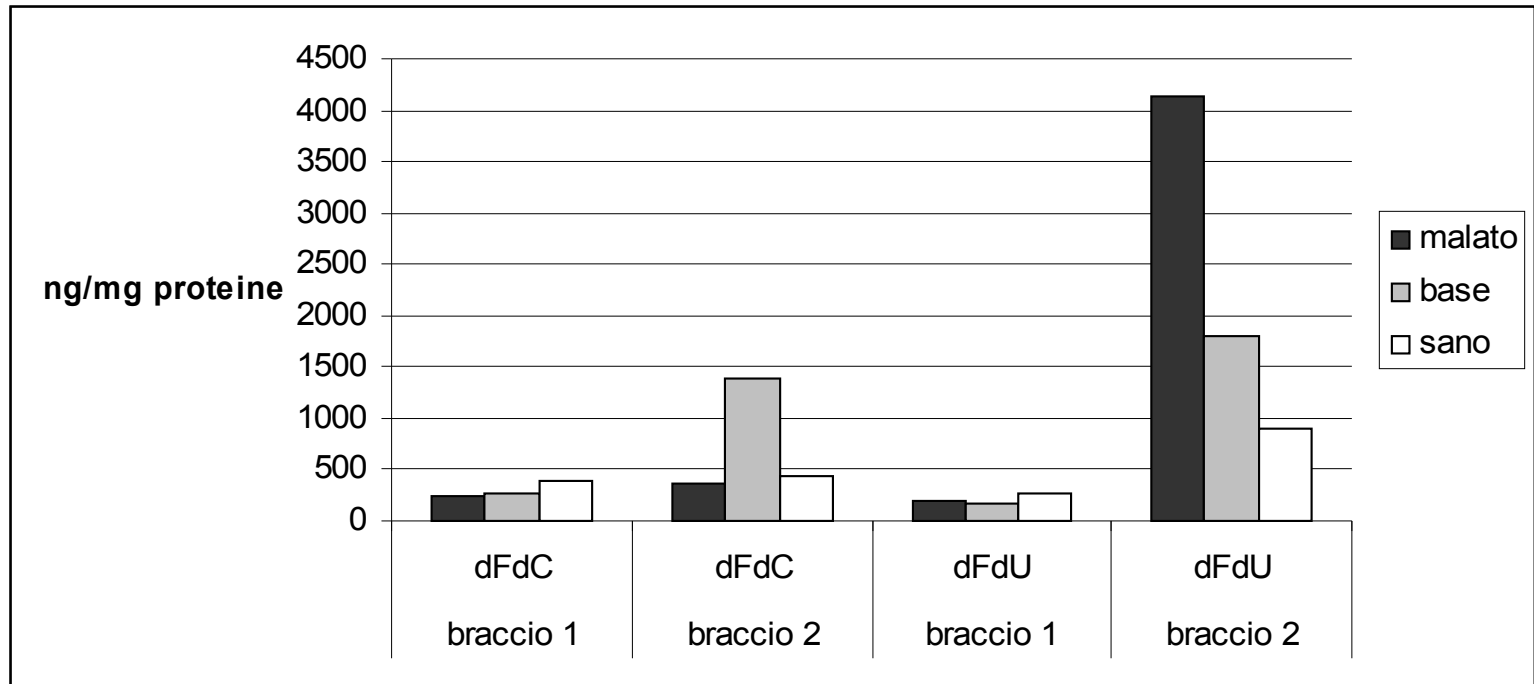
5: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 2 h

6: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 5,5 per 2 h

RISULTATI: TESSUTI

variabile: **VOLUME**

BRACCIO 1 (50 ml) vs BRACCIO 2 (100 ml)

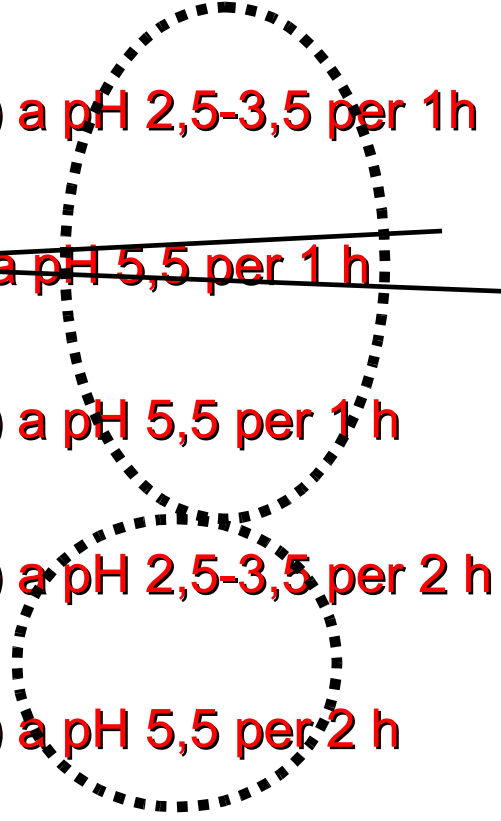


Commento sul volume di diluizione:

50 ml vs 100 ml (2000 mg, pH 3.5)

- L'influenza del volume di diluizione del farmaco sulle concentrazioni intratissutali risulta marginale per dFdC ma sembra essere più spiccato per dFdU
- Mentre si può facilmente intuire il vantaggio di un maggior volume di diluizione sulla diffusione intracellulare della molecola verosimilmente dovuto al fatto che la concentrazione pari a 20mg/ml è molto vicina ai limiti di solubilità della gemcitabina rispetto ad una concentrazione di 40 mg/ml, risulta meno chiaro l'aumento spiccato del metabolita inattivo

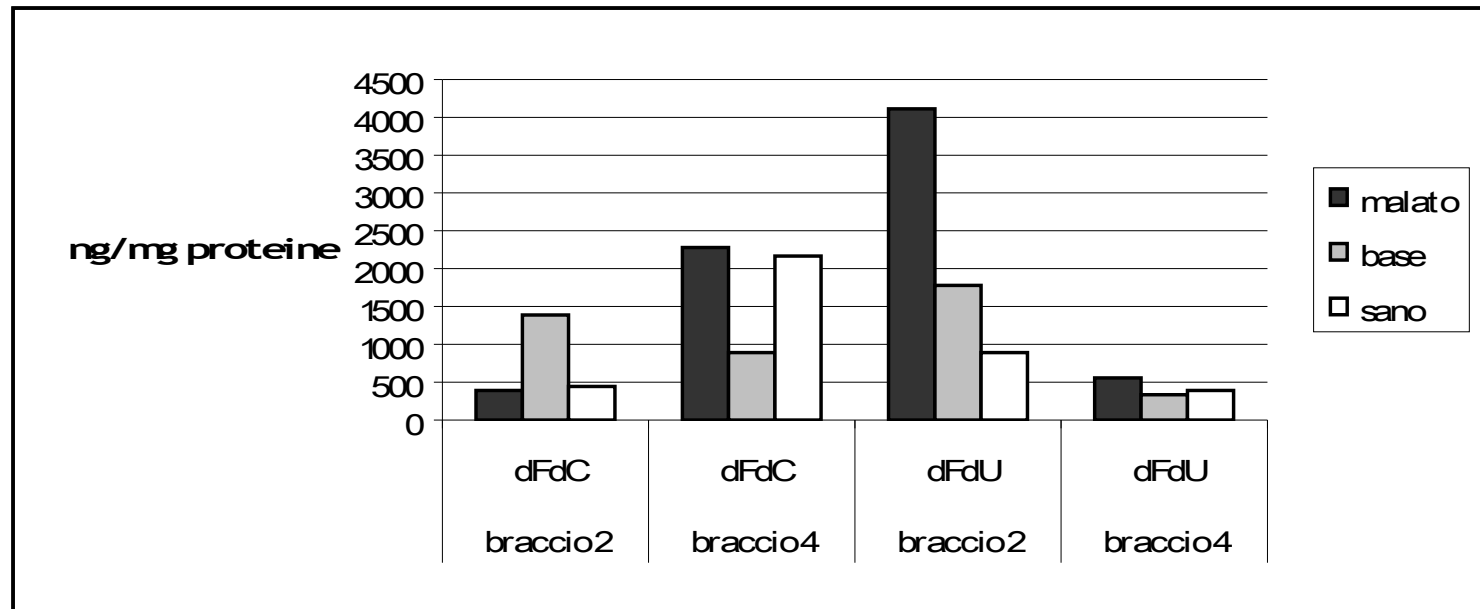
BRACCI DI TRATTAMENTO : variabile pH

- 1: gemcitabina 2000 mg in 50 ml (40 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 1 h
 - 2: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 1h
 - ~~3: gemcitabina 2000 mg in 50 ml (40 mg/ml) a pH 5,5 per 1 h~~
 - 4: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 5,5 per 1 h
 - 5: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 2 h
 - 6: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 5,5 per 2 h
- 

RISULTATI: TESSUTI

variabile: **PH**, 1 ora

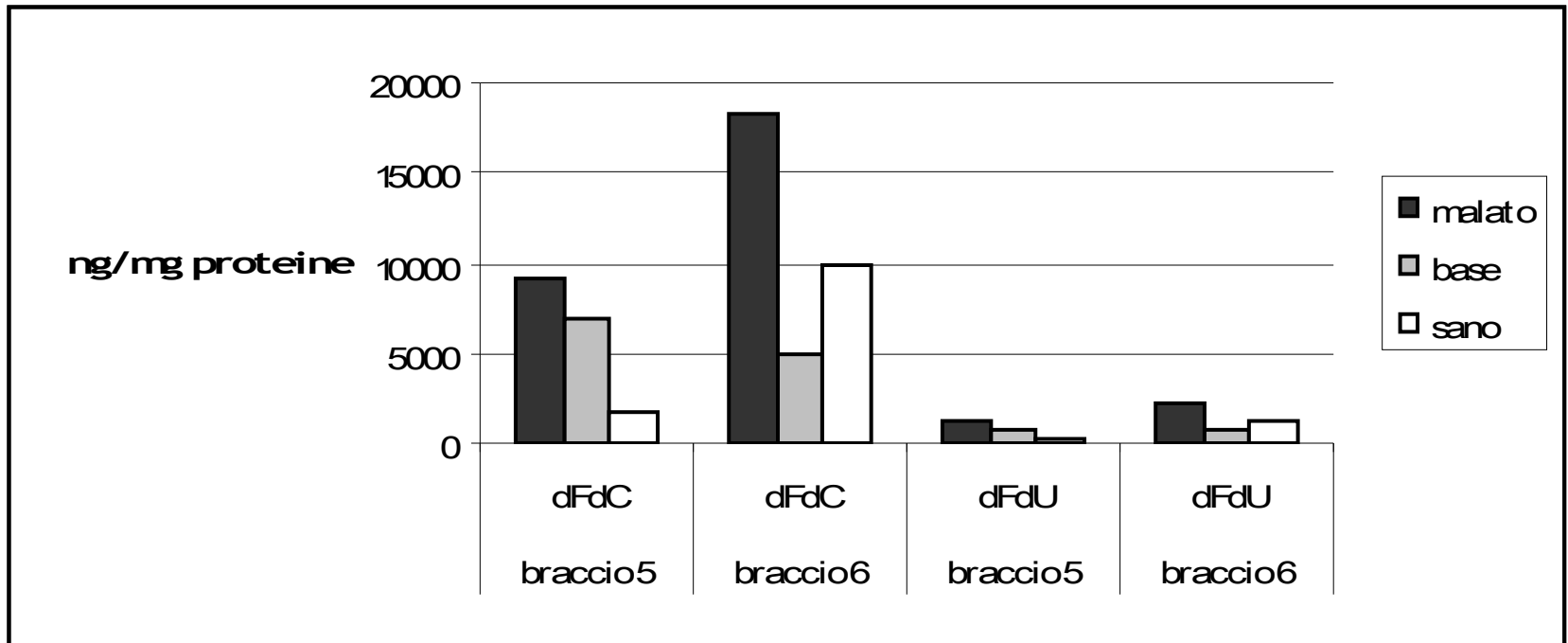
BRACCIO 2 vs BRACCIO 4
(pH3.5 1h) (pH5.5 1h)



RISULTATI: TESSUTI

variabile: **PH**, 2 ore

BRACCIO 5 vs BRACCIO 6
(pH 3.5 2h) (pH 5.5 2h)



Commento sul pH: 3.5 vs 5.5

- **Assorbimento tissutale di Gemcitabine (dFdC) enormemente aumentato a pH 5.5 rispetto ad un pH di 3.5, soprattutto se l'instillazione dura 2 ore**
- **L'assorbimento plasmatico rimane comunque basso**
- **La forma deaminata inattiva (dFdU) non mostra l'incremento che ci si aspetterebbe**
- **L'inibizione da parte di DFDC2D porterebbe ad una ridotta formazione di DF2U**

BRACCI DI TRATTAMENTO : variabile: durata instillazione

1: gemcitabina 2000 mg in 50 ml (40 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 1 h

2: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 1h

~~3: gemcitabina 2000 mg in 50 ml (40 mg/ml) a pH 5,5 per 1 h~~

4: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 5,5 per 1 h

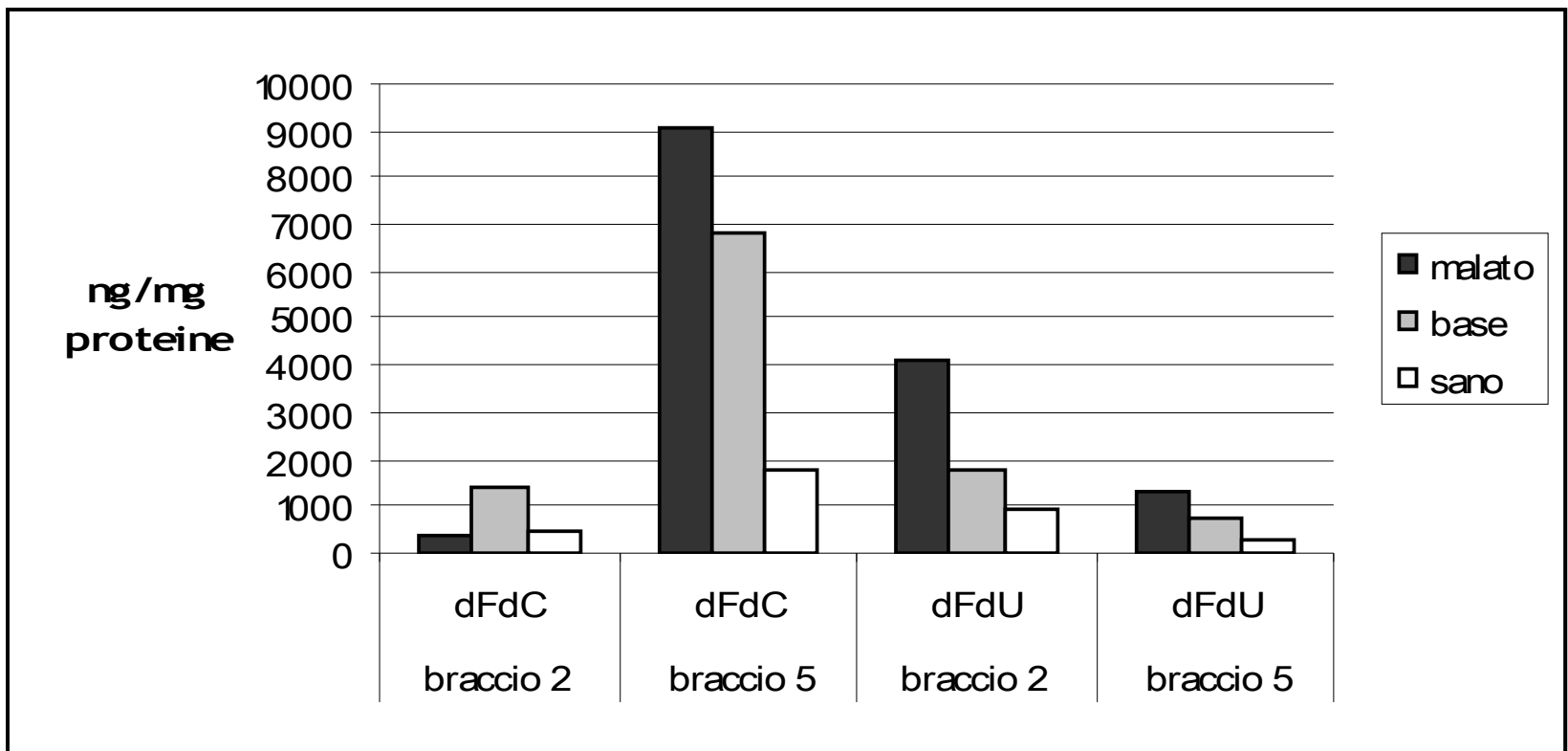
5: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 2,5-3,5 per 2 h

6: gemcitabina 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) a pH 5,5 per 2 h

RISULTATI: TESSUTI

variabile: durata instillazione

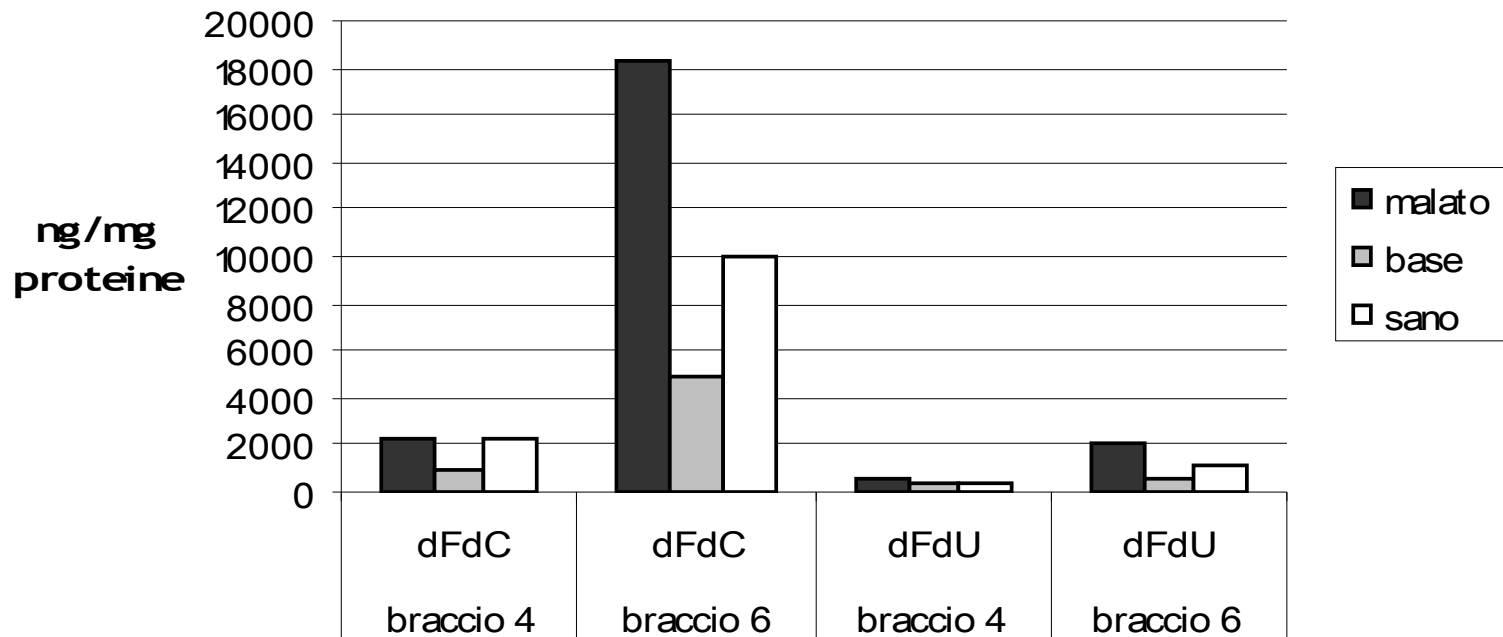
BRACCIO 2 vs BRACCIO 5
(1h pH 3.5) (2h pH 3.5)



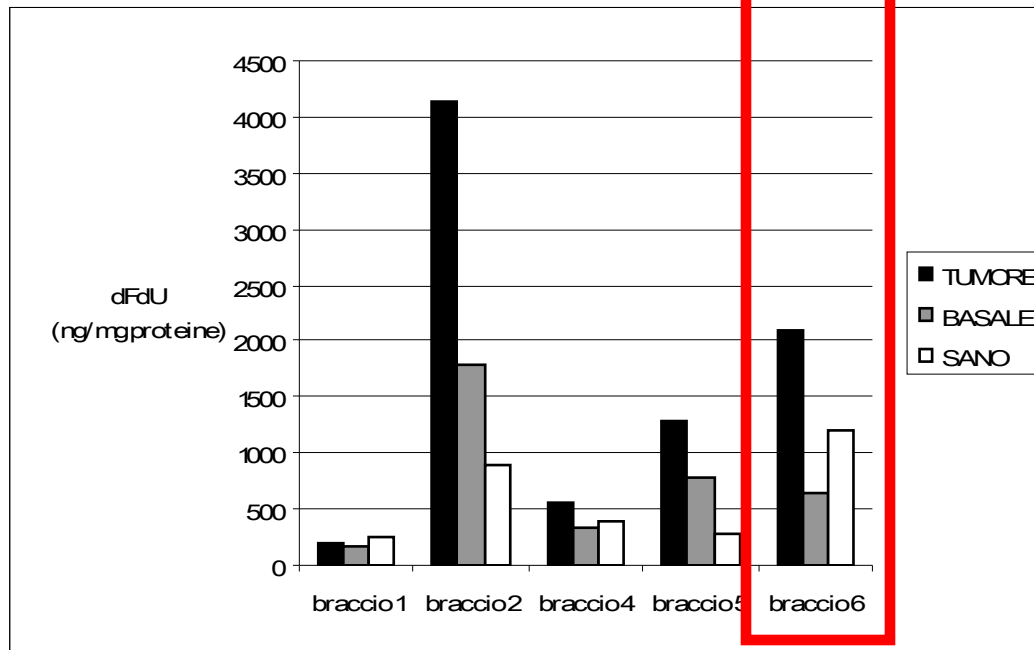
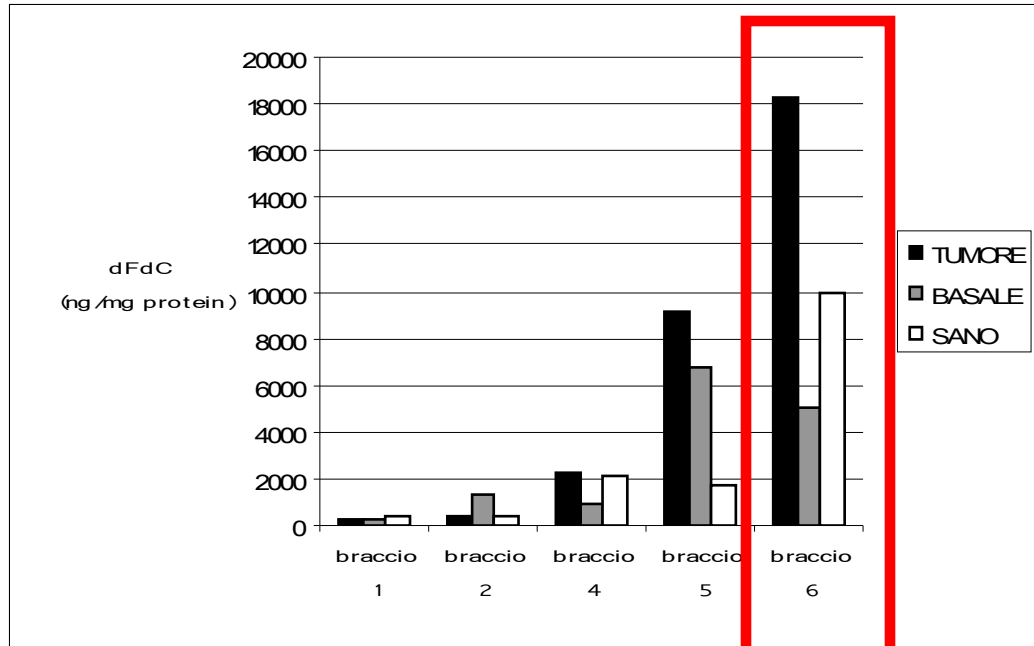
RISULTATI: TESSUTI

variabile: durata instillazione

BRACCIO 4 vs BRACCIO 6
(1h pH 5.5) (2h pH 5.5)



Risultati



BRACCIO 6:

pH 5,5 2000 mg in 100 ml (20 mg/ml) per 2 h

Raggruppa diversi vantaggi:

- Un più elevato volume = un maggiore assorbimento tissutale della forma non-dissociata di Gemcitabina che è maggiormente solubile (una concentrazione di 20 mg/ml è prossima al punto di solubilità)
- Un pH più elevato che favorisce un maggiore assorbimento tissutale di dFdC ed una ridotta forma deaminata a motivo dell'inibizione dell'enzima DCTD (che avverrebbe solo in presenza di elevate concentrazioni della forma attiva dFdCTP) e forse minori effetti collaterali!
- Una più prolungata esposizione che influenza l'assorbimento tissutale ma non quello sistemico

Limiti dello studio

- Non è stato possibile determinare il metabolita finale (dFdCTP)
- Un effetto farmacocinetico ottimale si traduce in una maggiore efficacia clinica?
- Necessario un braccio ulteriore: dimezzamento della dose a pH 5.5 in 100 ml, per 2 h (?)