

1. Einführung

Gemcitabin (2',2'-Difluorodesoxycytidin; dFdC) ist ein Zytostatikum aus der Gruppe der Antimetaboliten, das sich bei verschiedenen soliden Tumorarten als wirksam erwiesen hat. Gemcitabin ist durch ein relativ günstiges Nebenwirkungsprofil und eine vergleichsweise hohe therapeutische Breite gekennzeichnet und wurde bisher am häufigsten bei Patienten mit Pankreas-, Blasen-, Mamma-, Ovarial- oder nicht kleinzelligen Bronchialkarzinomen eingesetzt. Dabei wird Gemcitabin in der Regel als Infusion über 30 Minuten in einer Dosis von 1000-1250 mg/m² verabreicht.

Gemcitabin ist eine inaktive Vorläufersubstanz, die intrazellulär durch Phosphorylierung aktiviert wird. Diese Aktivierungsreaktion kann jedoch einer Sättigung unterliegen, was dazu führt, dass bei pharmakologisch relevanten Dosierungen nur ein Teil des verabreichten Gemcitabins in die aktiven Metabolite umgewandelt werden kann. Wird hingegen die gleiche Substanzmenge über einen längeren Zeitraum infundiert, kann eine effizientere Aktivierung erreicht werden.

Ziel der vorliegenden Habilitationsarbeit war deshalb, in mehreren, aufeinander aufbauenden klinischen Studien den Einfluss einer Verlängerung der Infusionsdauer von Gemcitabin systematisch zu untersuchen. Durch die optimierte Aktivierung von Gemcitabin sollte dabei u.a. versucht werden, bei Beibehaltung der therapeutischen Wirksamkeit und des günstigen Nebenwirkungsprofils eine Reduktion der Dosierung von Gemcitabin und eine Steigerung der Kosteneffektivität zu erreichen.

1.1. Pharmakologie von Gemcitabin

Wirkmechanismen

Die zytostatische Wirkung von Gemcitabin beruht in erster Linie auf dem Einbau von Gemcitabin-5'-Triphosphat (dFdCTP) in den wachsenden DNA-Strang und in geringerem Ausmaß auch in die RNA (Heinemann, et al, 1988). Der Einbau von Gemcitabin führt zum Abbruch der DNA-Synthese und schließlich zum Zelltod über apoptotische Mechanismen. Im Gegensatz zu anderen Nukleosidanaloga ist für Gemcitabin charakteristisch, dass nach dem Einbau zunächst ein weiteres Nukleotid angefügt wird, bevor die Synthese des DNA-Strangs zum Abbruch kommt (Huang et al, 1991, Plunkett et al, 1995). Diese „maskierte“ DNA-Kettenterminierung hat zur Folge, dass DNA-Reparaturenzyme wie z.B. Exonukleasen das falsch eingebaute Gemcitabin-Nukleotid

nicht erkennen und folglich auch nicht entfernen können. Der Abbruch der DNA-Synthese wird dadurch irreparabel.

Über verschiedene andere zelluläre Mechanismen wird die Wirkung von Gemcitabin potenziert. Das zwischenzeitlich gebildete Gemcitabin-5'-Diphosphat (dFdCDP) hemmt die Ribonukleotid-Reduktase und somit die *de novo* Desoxynukleotidsynthese. Dies führt zu einer Verminderung des zellulären dCTP-Angebots, wodurch es zu einem erhöhten Einbau von dFdCTP in die DNA kommt. Da die Deoxycytidinkinase durch dCTP gehemmt wird, bedingt der Konzentrationsabfall von dCTP zudem eine gesteigerte Phosphorylierung von Gemcitabin.

Gemcitabin wird intrazellulär durch Deaminierung zu 2',2'-Difluordeoxyuridin (dFdU) inaktiviert. Die für die Deaminierung verantwortliche Cytidineaminase wird direkt durch dFdCTP und indirekt über den Abfall des intrazellulären dCTP-Spiegels inhibiert. Gemcitabin hemmt somit den Abbau und die zelluläre Elimination seiner aktiven Metabolite.

Pharmakokinetik

Die Plasma-Pharmakokinetik von Gemcitabin zeigt einen biphasischen Verlauf und kann am besten über ein Zwei-Kompartimentmodell beschrieben werden. Das mittlere Verteilungsvolumen des zentralen Kompartiments beträgt zwischen 9 und 30 l/m² und ist abhängig von Körperoberfläche und Geschlecht, während das Volumen des peripheren Kompartiments zwischen 6,1 und 31,5 l/m² liegt und durch die Infusionsdauer beeinflusst wird. Die Plasmakonzentration von Gemcitabin erreicht etwa 5 Minuten nach Infusionsende ein Plateau, wobei in Abhängigkeit von der Infusionsrate bei Infusionszeiten von 1-3 Stunden und einer Gesamtdosis von 800 mg/m² Plasmakonzentrationen zwischen 5,6 µmol/l (bei 4,5 mg/m²/min) und 43,8 µmol/l (bei 13,3 mg/min/m²) gemessen werden (Grunewald, et al 1990). Nach einer Gemcitabin-Dosis von 1000 mg/m² über 30 Minuten schwanken die maximalen Plasmakonzentrationen zwischen 30 µmol/l und 120 µmol/l (Abbruzzese et al. 1991, Allerheiligen et al 1992, Allerheiligen et al 1994, Storniolo et al 1997).

Die Eliminationshalbwertszeit aus dem Plasma liegt zwischen 8 und 26 Minuten. Gemcitabin wird vor allem in der Leber, den Nieren und im Blut durch die Cytidineaminase zu dem zytostatisch inaktiven Metaboliten dFdU abgebaut, der nachfolgend renal ausgeschieden wird. Die Halbwertszeit von dFdU im Blut beträgt in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht etwa 40-90 Minuten.

1.2. Gemcitabin beim Mammakarzinom

Beim Mammakarzinom wurde Gemcitabin bisher in mehreren, überwiegend kleineren Studien untersucht (Tabelle 1). Dabei konnten in der Erstlinientherapie objektive Ansprechraten zwischen 14% und 37% beobachtet werden (Blackstein et al, 2002; Possinger et al, 1999, Feher et al, 2002). Unter Berücksichtigung einer vorübergehenden Krankheitsstabilisierung profitierten mehr als die Hälfte der Patienten von der Behandlung.

Auch bei zytostatisch vorbehandelten Frauen zeigte sich Gemcitabin aktiv (Carmichael et al, 1995; Brodowicz et al, 2000; Gerson et al, 2000; Smorenburg et al, 2001; Spielmann et al, 2001; Valerio et al, 2001). In der Zweitlinientherapie konnten objektive Ansprechraten von bis zu 26% erzielt werden. In der Drittlinientherapie sprachen immerhin noch 13% auf die Behandlung an. Es scheint dabei nur eine unvollständige Kreuzresistenz mit Anthrazyklinen und Taxanen zu bestehen.

| Autor | Patienten [n] | Behandlungs-Indikation | Ansprechrate [%] | TTP [Monate] |
|------------------|---------------|---|------------------|--------------|
| Blackstein, 2002 | 39 | 1 st -Line | 37 | 5,1 |
| Feher, 2002 | 198 | 1 st -Line | 16 | 3,4 |
| Possinger, 1999 | 42 | 1 st -Line | 14 | 3,8 |
| Carmichael, 1995 | 44 | 1 st /2 nd -Line | 25 | 5,1 |
| Gerson, 2000 | 19 | 1 st -Line und Folgetherapie | 42 | NA |
| Spielmann, 2001 | 47 | 2 nd /3 rd -Line | 29 | NA |
| Valerio, 2001 | 26 | 2 nd /3 rd -Line | 23 | NA |
| Brodowicz, 2000 | 25 | 2 nd /3 rd -Line | 16 | 3,6 |
| Smorenburg, 2001 | 23 | 2 nd -Line und Folgetherapie | 0 | 1,9 |

Tabelle 1. Gemcitabin in der Monotherapie bei Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom. NA: nicht angegeben.

Neben der Monotherapie wurde Gemcitabin auch in Kombinationstherapien u.a. mit Anthrazyklinen, Taxanen, Vinca-Alkaloiden oder Platin-Derivaten evaluiert. Die bisherigen Ergebnisse stammen überwiegend von Phase II Studien, in denen zum Teil

vielversprechende Ansprechraten beobachtet wurden. Phase III Daten liegen derzeit für die Kombination von Gemcitabin und Paclitaxel vor, die bei Anthrazyklin-vorbehandelten Frauen mit einer Paclitaxel-Monotherapie verglichen wurde (O'Shaughnessy et al, 2003). Dabei zeigte sich die Kombinationsbehandlung der Monotherapie hinsichtlich der Ansprechrate (39,3% vs. 25,6%) und der Zeit bis zur Tumorprogression (5,4 vs. 3,5 Monate) überlegen, was sich auch in einem signifikanten Überlebensvorteil und einer Verbesserung der Lebensqualität äußerte.

1.3. Nebenwirkungsprofil von Gemcitabin

Gemcitabin zeichnet sich gegenüber anderen Zytostatika durch eine vergleichsweise geringe Toxizität aus. So werden vor allem ausgeprägte Übelkeit, Erbrechen, Haarverlust oder Schleimhauttoxizitäten nur selten beobachtet (Tabelle 2).

Hämatotoxizität

Im Vordergrund steht eine milde bis mäßige Myelosuppression. Unter einer Monotherapie entwickeln etwa 10-25% der Patienten eine Grad 3 oder 4 Leuko- oder Neutropenie und etwa 5% eine Thrombozytopenie. Das Ausmaß der Myelosuppression ist abhängig von der Infusionsdauer und kann bei Verlängerung der Applikationszeit bei gleicher Dosierung deutlich zunehmen. Gelegentlich kann es nach Regeneration des Blutbilds zu einer vorübergehenden, geringen Thrombozytose kommen, die in der Regel keine klinische Relevanz hat.

Nicht-hämatologische Toxizität

Relativ häufig treten unter einer Therapie mit Gemcitabin passagere Erhöhungen der Transaminasen oder eine milde Proteinurie auf. Diese sind aber gewöhnlich geringgradig (Grad 3 Erhöhung der Transaminasen bei etwa 5-10% der Patienten) und nur in Ausnahmefällen dosislimitierend. Bei Unterbrechung der Therapie bildet sich die Erhöhung der Transaminasen in der Regel rasch zurück. Die Therapie kann zumeist ohne Modifikationen wieder aufgenommen werden. Hinweise auf eine kumulative hepatische oder renale Toxizität liegen nicht vor.

Bei bis zu 20% der Patienten treten nach einer Therapie mit Gemcitabin grippeähnliche Beschwerden wie Fieber, Kopfschmerzen, Schüttelfrost, Myalgien und Müdigkeit auf. Die Symptome sind meist nur schwach ausgeprägt, bessern sich häufig unter Paracetamol und führen nur sehr selten zum Therapieabbruch. Gelegentlich kommt es unter einer

Therapie mit Gemcitabin zur Ausbildung von Exanthenen oder Ödemen. Die Pathogenese der Ödeme, die sich meist rasch zurückbilden, ist ungeklärt. Ein Zusammenhang mit einer Herz-, Leber- oder Niereninsuffizienz ließ sich nicht nachweisen.

Vereinzelt wurde in Zusammenhang mit einer Therapie mit Gemcitabin über das Auftreten schwerer pulmonaler Komplikationen wie Lungenödem, interstitielle Pneumonitis oder ARDS berichtet. In diesen Fällen ist die Behandlung mit Gemcitabin abzubrechen. Durch frühzeitigen Einsatz supportiver Therapiemaßnahmen insbesondere die Verabreichung von Glukokortikosteroiden kann der Verlauf günstig beeinflusst werden.

| | Patienten [n] | Grad 1 [%] | Grad 2 [%] | Grad 3 [%] | Grad 4 [%] |
|---------------------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Hämatologische Toxizität | | | | | |
| Leukozyten | 781 | 24,8 | 27,7 | 8,1 | 0,5 |
| Granulozyten | 781 | 17,2 | 22,2 | 18,7 | 5,7 |
| Thrombozyten | 781 | 9,9 | 6,3 | 3,7 | 1,0 |
| Hämoglobin | 781 | 38,9 | 19,3 | 6,4 | 0,9 |
| Nicht hämatologische Toxizität | | | | | |
| Nausea/ Emesis | 435 | 26,9 | 17,7 | 19,8 | 0,9 |
| Alopezie | 435 | 9,0 | 3,9 | 0,5 | 0 |
| Mukositis | 435 | 4,4 | 2,3 | 0,2 | 0 |
| Infektion | 435 | 5,3 | 4,4 | 0,5 | 0 |
| Dyspnoe | 435 | 4,8 | 1,6 | 1,6 | 0,2 |
| Leberfunktion | | | | | |
| ALT | 620 | 37,4 | 21,0 | 7,4 | 1,8 |
| AST | 736 | 39,1 | 18,2 | 5,7 | 1,4 |
| AP | 776 | 29,0 | 14,8 | 4,5 | 2,1 |
| Bilirubin | 773 | 7,2 | 14 | 1,0 | 0,5 |
| Nierenfunktion | | | | | |
| Kreatinin | 777 | 7,5 | 0,5 | 0,1 | 0 |
| Proteinurie | 748 | 46,9 | 11,1 | 0,5 | 0 |
| Plasma-Harnstoff | 720 | 15,0 | 2,2 | 0 | 0 |

Tabelle 2. Hämatologische und nicht-hämatologische Toxizität unter einer Gemcitabin-

Monotherapie mit 800-1250 mg/m² bei soliden Tumoren (1); AST: Aspartat-Transaminase; ALT: Alanin-Transaminase; AP: Alkalische Phosphatase

1.4. Gemcitabin mit verlängerter Applikationsdauer

Rationale

Das Ausmaß der Hemmung der DNA-Synthese ist entscheidend von der zellulären dFdCTP-Konzentration abhängig, das erst nach Aufnahme in die Zelle durch Phosphorylierung der inaktiven Vorläufersubstanz Gemcitabin entsteht.

Gemcitabin wird aufgrund seiner Lipophilie rasch in die Zelle aufgenommen. Da die Elimination von dFdCTP mit Halbwertszeiten von 6 Stunden und länger relativ langsam erfolgt, wird die intrazelluläre dFdCTP-Konzentration wesentlich durch die Phosphorylierungsrate von Gemcitabin bestimmt. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist dabei die Phosphorylierung zum 5'-Monophosphat, die durch das Enzym Deoxycytidinkinase katalysiert wird (Plunkett et al, 1995; Bouffet et al, 1993).

In verschiedenen Tumormodellen konnte gezeigt werden, dass die Akkumulation und Retention von dFdCTP zeitabhängig ist. Dabei geht eine Verlängerung der Applikationsdauer mit einer signifikant höheren antitumoralen Wirksamkeit bei vergleichbarem Nebenwirkungsprofil einher (Ruiz van Haperen et al, 1994; Braakhuis et al, 1994; Veerman et al, 1996).

Klinische Untersuchungen

Klinische Untersuchungen an Leukämiezellen und mononukleären Zellen wiesen eine maximale intrazelluläre Akkumulation der aktiven Metabolite von Gemcitabin bei einer Plasmakonzentration von 10-20 µmol/l nach. Die Ursache hierfür liegt in einer Sättigung der Deoxycytidinkinase oberhalb einer Gemcitabin-Plasmakonzentration von 15-20 µmol/l (Grunewald et al, 1991; Grunewald et al, 1990). So ergab sich bei einer Infusionsdauer von 30 Minuten ein dosisabhängiger Anstieg der intrazellulären dFdCTP-Konzentration in einem Dosisbereich von 35-250 mg/m², während durch höhere Dosen von 350-1000 mg/m², die mit einer Gemcitabin-Plasmakonzentration von mehr als 20 µmol/l einhergehen, keine weitergehende Zunahme der aktiven Metabolite erreicht werden konnte (Abbruzzese et al, 1991). Auf der anderen Seite konnte bei einer Gemcitabin-Dosis von 800 mg/m² durch eine Verlängerung der Infusionsdauer von 60 Minuten auf

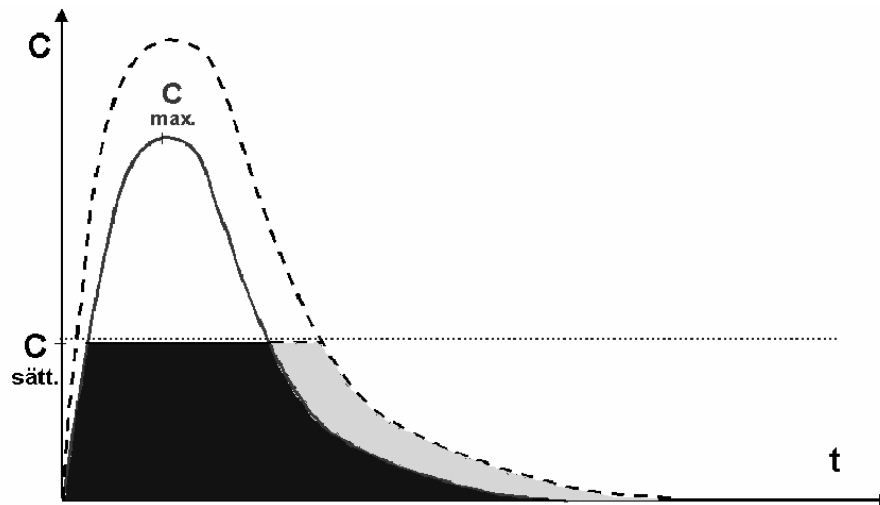
120 bzw. 180 Minuten eine Steigerung der Akkumulation von dFdCTP um das 2,3-fache bzw. 5,1-fache erreicht werden kann (Grunewald et al, 1990).

Expositionsdauer und Sättigungskonzentration

Die für die antitumorale Wirkung notwendige Aktivierung von Gemcitabin kann somit bei pharmakologisch relevanten Gemcitabin-Konzentrationen einer Sättigung unterliegen. Dies hat zur Konsequenz, dass bei konstanter Expositionsdauer eine Steigerung der Gemcitabin-Konzentration über die Sättigungskonzentration hinaus nicht zu einer weiteren Konzentrationserhöhung von dFdCTP und somit wohl auch nicht zu einer weiteren Wirkungssteigerung führt. Auf der anderen Seite bedeutet es auch, dass die Wirksamkeit nicht nur von der gegebenen Dosis, sondern wesentlich von der Expositionsdauer und, unter Berücksichtigung der kurzen plasmatischen Halbwertszeit, von der Infusionsdauer abhängig ist (Abbildung 1).

Da während einer Standardinfusion mit 1000-1200 mg/m² Gemcitabin über 30 Minuten die maximalen Plasmakonzentrationen zwischen 30 µmol/l und 120 µmol/l betragen und somit die Sättigungskonzentration der Deoxycytidinkinase in der Regel überschritten wird (Abbruzzese et al, 1991; Allerheiligen et al, 1992; Allerheiligen et al 1994), wurde in mehreren Studien untersucht, ob durch eine Verlängerung der Applikationsdauer die antitumorale Wirksamkeit von Gemcitabin gesteigert werden kann. Die im Rahmen dieser kumulativen Habilitation vorgelegten Arbeiten fassen die wichtigsten Ergebnisse des Autors zum Thema „Monotherapie und Kombinationsbehandlung des Mammakarzinoms unter Einsatz von Gemcitabin mit verlängerter Applikationsdauer“ zusammen.

a)



b)

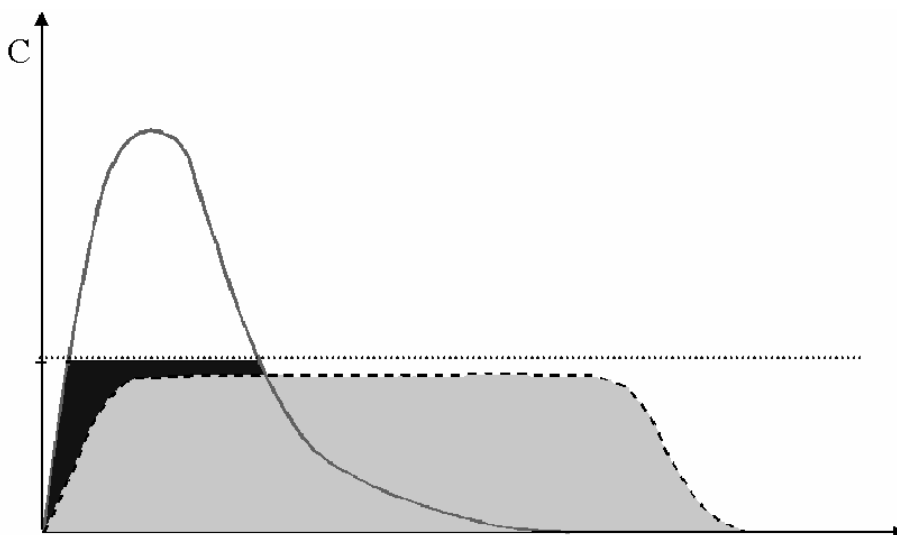


Abbildung 1. Schematische Darstellung der Aktivierung von Gemcitabin zu dFdCTP in Abhängigkeit von der Applikation: a: Im Verlauf einer 30-Minuten Infusion mit konventionellen Dosierungen überschreitet die intrazelluläre Gemcitabin-Konzentration die Sättigungskonzentration ($C_{\text{sätt.}}$, gepunktete Linie) der bei der Aktivierung geschwindigkeitsbestimmenden Deoxycytidinkinase, so dass nur ein Teil der Gesamtmenge phosphoryliert wird. Bei einer Dosiserhöhung von Gemcitabin kann nur eine geringe zusätzliche Menge an dFdCTP entstehen. b: Eine verlängerte Applikationsdauer bedingt niedrigere Spitzenkonzentrationen unterhalb $C_{\text{sätt}}$ und ermöglicht somit eine verstärkte Umwandlung von Gemcitabin zu dFdCTP. Idealerweise liegt die maximale Gemcitabin-Konzentration (C_{max}) kontinuierlich unter der $C_{\text{sätt}}$; C: Intrazelluläre Gemcitabin Konzentration

1.5. Aufbau und Zielsetzung des Studienprogramms zu Gemcitabin mit verlängerter Applikationsdauer

Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Habilitationsarbeit war, den Einfluss einer Verlängerung der Infusionsdauer von Gemcitabin in der Therapie des Mammakarzinoms systematisch zu untersuchen. Dazu wurde ein Phase I und II Studienprogramm entwickelt, das zum Ziel hatte, durch eine optimierte Aktivierung von Gemcitabin bei Beibehaltung der therapeutischen Wirksamkeit und des günstigen Nebenwirkungsprofils eine Reduktion der Dosierung von Gemcitabin und eine Steigerung der Kosteneffektivität zu ermöglichen (Abbildung 1).

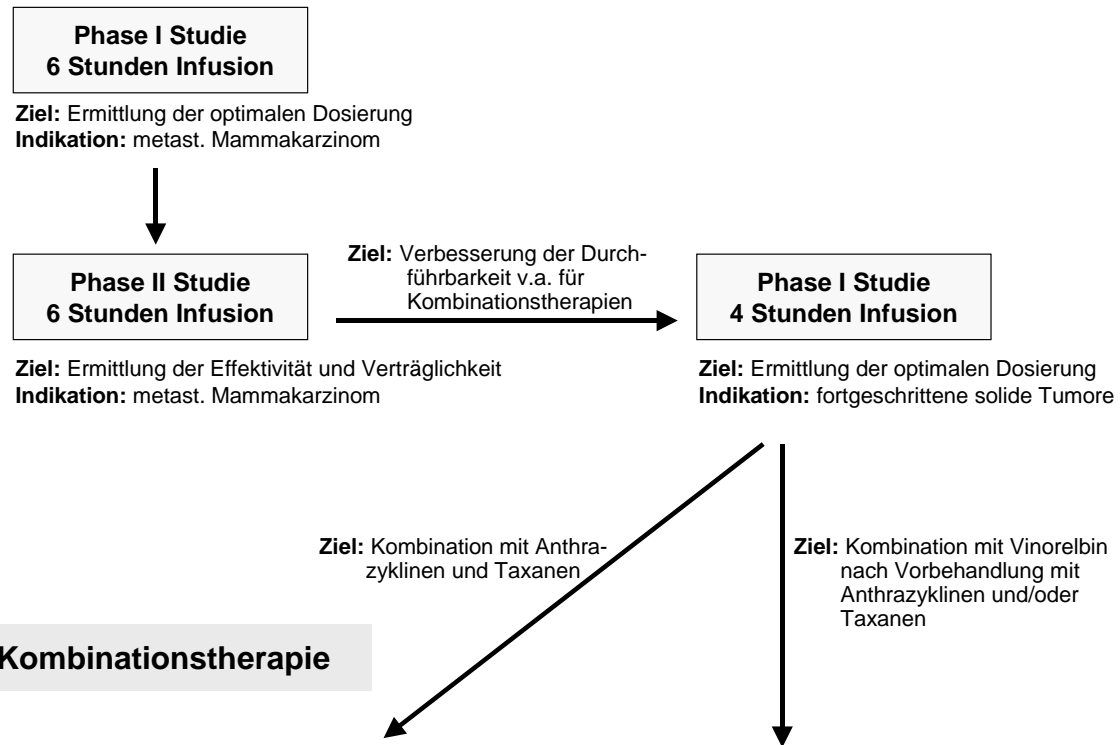
Zielführende Strategieplanung

Der erste Schritt des Entwicklungskonzepts war eine Phase I Studie, in der die MTD von Gemcitabin bei einer sechsständigen Infusionsdauer ermittelt wurde. Darauf aufbauend sollte in einer Phase II Studie die antitumorale Effektivität und das Nebenwirkungsprofil bei Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom weiter untersucht werden.

Da Gemcitabin überwiegend in Kombinationen verabreicht wird und dabei eine sechsständige Infusionsdauer von Gemcitabin die ambulante Durchführbarkeit erheblich erschwert, sollte im Anschluss daran eine weitere Phase I Studie durchgeführt werden, um die MTD von Gemcitabin bei vierständiger Infusionsdauer zu ermitteln.

Danach sollte der Stellenwert der 4-Stunden-Infusion zum einen in Kombination mit Anthrazyklinen und Taxanen, zum anderen in Kombination mit Vinorelbin bei Anthrazyklin und/oder Taxan-vorbehandelten Patientinnen untersucht werden.

Monotherapie



Kombinationstherapie

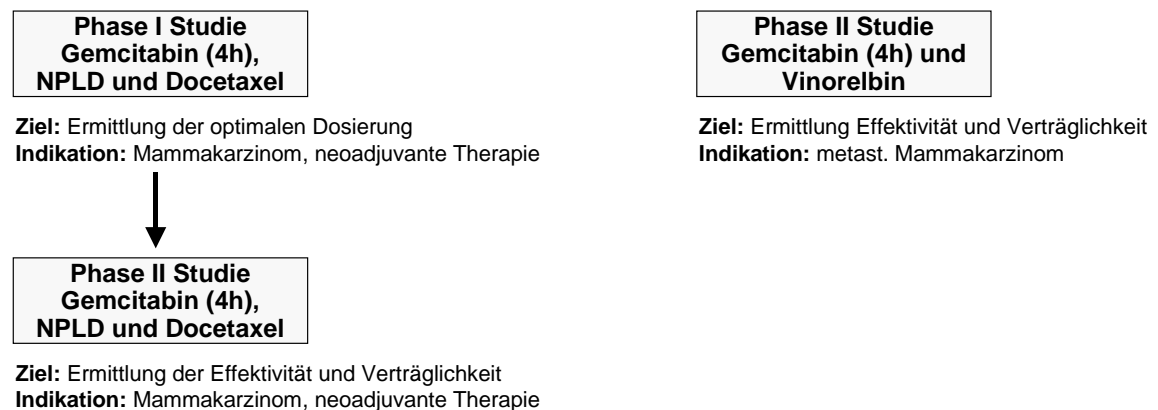


Abbildung 2. Übersicht über das von uns gewählte Phase I und II Studienprogramm zur Klärung des Einflusses einer Verlängerung der Infusionsdauer von Gemcitabin beim Mammakarzinom hinsichtlich Effektivität und Verträglichkeit (Details s. Text).