

Université de Montréal

**Effet du 5-fluorouracile Systémique sur la  
Pharmacocinétique de la Chimiothérapie Hyperthermique  
Intrapéritonéale à l'Oxaliplatine  
Démonstration de Concept chez l'Animal**

par

David Badrudin

Sciences Biomédicales

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès sciences  
en Sciences Biomédicales  
option Générale

Décembre 2017

© David Badrudin, 2017

## Résumé

**Contexte:** La chirurgie de cytoréduction combinée à la chimiothérapie hyperthermique intrapéritonéale (CHIP) à l'oxaliplatine (OX) est un standard de traitement pour certains patients sélectionnés atteints de carcinose péritonéale d'origine colorectale. Puisque le 5-FU potentialise l'action de l'OX lorsqu'administrés en intraveineux (IV), plusieurs groupes combinent empiriquement le 5-FU IV avec la CHIP à l'OX, mais cette pratique n'est pas soutenue par des données précliniques. Chez le rat, nous avons étudié l'impact du 5-FU IV sur la concentration péritonéale de l'OX dans le contexte d'une CHIP.

**Méthodes:** Sous anesthésie générale, 24 rats Sprague-Dawley furent soumis à 4 différentes doses de 5-FU IV (0, 100, 400 et 800 mg/m<sup>2</sup>) et une dose fixe de CHIP à l'OX (460 mg/m<sup>2</sup>) perfusée à 40°C pendant 25 minutes. À 25 minutes, des échantillons de différents compartiments furent prélevés (péritoine, veine porte et veine cave) et les concentrations de 5-FU et OX furent mesurées par Chromatographie Liquide à Haute Performance.

**Résultats:** La concentration péritonéale d'OX a augmenté significativement (17.0, 20.1, 34.9 et 38.1 nmol/g,  $p < 0.0001$ ) avec chaque dose croissante de 5-FU (0, 100, 400 et 800 mg/m<sup>2</sup>, respectivement). La concentration péritonéale d'OX a atteint un plateau entre les doses de 400 et 800 mg/m<sup>2</sup> de 5-FU IV.

**Conclusion:** Le 5-FU IV potentialise la concentration péritonéale de la CHIP à l'OX. La dose optimale de 5-FU IV à administrer en combinaison avec la CHIP à l'OX semble être 400 mg/m<sup>2</sup>.

**Mots-clés :** CHIP, Étude expérimentale, Pharmacocinétique, 5-FU, Oxaliplatine

## **Abstract**

**Background:** Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) with oxaliplatin (OX) is a standard of care for selected patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. Because 5-FU is mandatory to improve efficacy of OX when used by systemic route, several teams now empirically combine intravenous (IV) 5-FU with HIPEC OX, but this practice has yet to be supported by preclinical data. Using a murine model, we studied the impact of IV 5-FU on peritoneal concentration of HIPEC OX.

**Methods:** Under general anesthesia, 24 Sprague-Dawley rats were submitted to 4 different doses of IV 5-FU (0, 100, 400 and 800 mg/m<sup>2</sup>) and a fixed dose of HIPEC OX (460 mg/m<sup>2</sup>) perfused at 40°C during 25 minutes. At 25 minutes, samples in different compartments were harvested (peritoneum, portal vein and systemic blood) and the concentrations of 5-FU and OX were measured by high performance liquid chromatography.

**Results:** Peritoneal concentration of OX was significantly higher (17.0, 20.1, 34.9 and 38.1 nmol/g,  $p < 0.0001$ ) with increasing doses of 5-FU (0, 100, 400 and 800 mg/m<sup>2</sup>, respectively). Peritoneal concentration of OX reached a plateau between 400 and 800 mg/m<sup>2</sup> of IV 5-FU.

**Conclusion:** IV 5-FU enhances peritoneal concentration of HIPEC OX. The most efficient dose of IV 5-FU to be used in combination with HIPEC OX seems to be 400 mg/m<sup>2</sup>.

**Keywords :** HIPEC, Experimental study, Pharmacokinetics, 5-FU, Oxaliplatin

# Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des tableaux.....	iv
Liste des figures .....	v
Liste des sigles .....	vi
Remerciements.....	viii
Introduction.....	1
Méthodes.....	14
Plan de l'étude .....	14
Procédure chirurgicale et prélèvements des échantillons .....	16
Préparation et analyse des échantillons.....	19
Dosage de l'oxaliplatine .....	19
Dosage du 5-fluorouracile.....	20
Analyse statistique .....	21
Résultats.....	22
Discussion.....	29
Conclusion .....	36
Bibliographie.....	i
Annexe: Article du mémoire.....	xiv

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b> Groupes expérimentaux en fonction des doses d'agents cytotoxiques et de la température de perfusion.....	15
<b>Tableau II.</b> Concentrations moyennes d'oxaliplatine dans le péritoine en fonction des différentes doses de 5-FU IV.....	26

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Photo du modèle expérimental.....	17
<b>Figure 2.</b> Relation entre la dose de 5-FU administré IV et la concentration de 5-FU dans le sérum de la veine cave 30 minutes post-injection. ....	23
<b>Figure 3.</b> Corrélation entre la concentration de 5-FU dans le sérum de la veine cave et la concentration de 5-FU dans le péritoine. ....	24
<b>Figure 4.</b> Corrélation entre la dose de 5-FU administré IV et la concentration péritonéale de l'oxaliplatine.....	25
<b>Figure 5.</b> Corrélation entre la concentration de 5-FU dans le sérum de la veine cave et la concentration péritonéale d'oxaliplatine. ....	27
<b>Figure 6.</b> Corrélation entre la concentration péritonéale de 5-FU et la concentration péritonéale d'oxaliplatine. ....	28

## Liste des sigles

**5-FU**: 5-Fluorouracile

**ANOVA**: Analyse de variance

**CCR**: Cancer colorectal

**CHIP**: Chimiothérapie hyperthermique intrapéritonéale

**CHIP-OX** : Chimiothérapie hyperthermique intrapéritonéale à l'oxaliplatine

**CIP**: Chimiothérapie intrapéritonéale

**CP**: Carcinose péritonéale

**CC** : Cytoréduction chirurgicale

**DPD** : Dihydropyrimidine déhydrogenase

**EGFR** : récepteur du facteur de croissance épidermique

**FOLFIRI** : Leucovorin + 5-FU + Irinotecan

**FOLFOX** : Leucovorin + 5-FU + Oxaliplatine

**ICP** : Index de carcinose péritonéale

**IP**: Intrapéritonéal

**IRI** : Irinotecan

**IV**: Intraveineux

**LV**: Leucovorin

**MMC** : Mitomycine-C

**OX**: Oxaliplatine

**VEGF** : Facteur de croissance endothélial vasculaire





# Remerciements

À mes parents et ma sœur, pour leur support et leur aide inconditionnels.

Aux Dr Pierre Dubé et Dr Lucas Sideris, pour m'avoir fourni tant d'opportunités, de mentorat et d'inspiration.

Au Dr Sylvain DesGroseilliers, pour son influence sur ma carrière actuelle et future. Un vrai modèle.

À Josée Tessier, pour sa contribution essentielle à ce projet et son implication extraordinaire.

À François A. Leblond, pour son travail acharné, et surtout pour sa curiosité scientifique contagieuse.

Et enfin, à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce projet,

Merci énormément.

## Introduction

La carcinose péritonéale (CP) est une manifestation fréquente de la progression naturelle du cancer colorectal (CCR). En effet, une banque de données de plus de 3000 CCR a permis d'identifier de la carcinose péritonéale chez 13% des patients [1]. Bien qu'un peu plus de 60% des patients atteints de CP se soient présentés avec une maladie synchrone, plus de la moitié d'entre eux n'avaient pas de métastase systémique. Historiquement, la survie médiane de ces patients fut de 7 mois, et l'étendue de la carcinose péritonéale ainsi que le stade T du cancer primaire représentèrent des facteurs de mauvais pronostic. À la fois l'expérience et la recherche clinique ont démontré l'évolution naturelle et la survie limitée de ces patients, estimée approximativement à 6 mois [2].

Les options de traitement de première ligne pour les patients atteints d'une maladie métastatique non résecable se sont significativement améliorées au cours des dernières années. La prise en charge médicale, avec des combinaisons de chimiothérapies cytotoxiques et d'agents biologiques, a permis d'augmenter la survie médiane des patients avec un CCR de stade IV jusqu'à 30 mois [3]. Parmi les agents cytotoxiques employés dans le traitement systémique du CCR, le 5-fluorouracile (5-FU) combiné au leucovorin (acide folinique, LV), l'irinotecan (IRI) et l'oxaliplatine (OX) ont démontré leur efficacité et sont donc fréquemment utilisés[4, 5].

Le 5-FU a été l'agent chimiothérapeutique principal dans le traitement du CCR métastatique pour de nombreuses années. Il s'agit d'un antimétabolite analogue des

pyrimidines inhibant l'enzyme thymidylate synthase et interférant avec la synthèse de l'ADN et de l'ARN[6, 7]. Le 5-FU se lie aux protéines sériques telle que l'albumine[8, 9] et son passage transmembranaire est influencé par plusieurs transporteurs[10-13]. Le 5-FU est rapidement métabolisé en composants inactifs, en particulier par l'enzyme dihydropyrimidine déhydrogenase (DPD). Des variations dans l'activité de cette enzyme critique chez certains patients pourraient expliquer les différences observées au niveau des effets secondaires du 5-FU. Les individus chez qui la DPD est absente développent des toxicités sévères et potentiellement mortelles[14]. Le 5-FU en monothérapie administré par bolus permet d'obtenir une réponse objective dans uniquement 10% des cas. Des taux de réponses supérieurs (environ 20-25%) peuvent être obtenus en administrant le 5-FU par infusion mais l'impact sur la survie demeure minime[15, 16]. Les profils de toxicité diffèrent entre ces deux voies d'administration: les neutropénies de grade 3/4 sont plus fréquentes avec le bolus (31% vs 4%) tandis que les syndromes main-pied sont plus communs avec l'infusion (34% vs 13%). Les effets secondaires gastro-intestinaux sont quant à eux similaires[17].

Le leucovorin permet d'améliorer la cytotoxicité du 5-FU par la formation d'un complexe stable avec la thymidylate synthase prolongeant ainsi l'inhibition de l'enzyme par le 5-FU[18]. La combinaison 5-FU/LV est associée à un taux de réponse deux fois supérieur (21% vs 11%) ainsi qu'une augmentation de la survie à 1 an de 10% (47% vs 37%)[19, 20].

La volonté d'optimiser les doses et les calendriers d'administration de 5-FU/LV a mené à l'utilisation de différents protocoles en clinique. Des régimes utilisant des bolus, comme le régime mensuel Mayo[21] et le régime hebdomadaire Roswell Park Memorial Institute (RPMI)[22], ont été comparés tant au niveau de leur efficacité que de leurs toxicités[23-25]. Le régime RPMI est généralement préféré puisqu'il engendre moins de myélosuppression et de

stomatite, et qu'il est plus aisément modifiable en cas de toxicité. Cependant, les taux de réponse (33% vs 14%) ainsi que la survie moyenne sans progression (28 vs 22 semaines) se sont significativement améliorés avec l'utilisation du 5-FU en infusion dans le protocole bimensuel de de Gramont: LV (200 mg/m<sup>2</sup> sur deux heures) suivi d'un bolus de 5-FU (400 mg/m<sup>2</sup>) et d'une infusion de 22 heures de 5-FU (600 mg/m<sup>2</sup>) administrés quotidiennement pour deux jours consécutifs, toutes les deux semaines[26]. De plus, ce protocole résulta en une diminution des toxicités gastro-intestinales et hématologiques.

Des analogues du 5-FU disponibles par voie orale permettent d'obtenir des taux de réponse comparables à ceux obtenus avec le 5-FU/LV IV, avec l'avantage de la prise orale plus commode[27, 28]. La capecitabine est un carbamate de fluoropyrimidine absorbé via la paroi intestinale puis converti en 5-FU par une série d'enzymes dont la dernière, la thymidine phosphorylase, est présente davantage dans les tissus tumoraux que dans les tissus normaux[29]. La capecitabine en monothérapie résulte en une efficacité similaire à celle du 5-FU/LV IV dans le traitement de première ligne du CRC métastatique[30, 31]. D'autres fluoropyrimidines orales, telles que la S-1 (une combinaison de ftorafur, gimeracil et oteracil) et la UFT (une combinaison de ftorafur et uracil) sont également disponibles dans certains pays[32-35].

Jusqu'au développement des régimes combinant le 5-FU/LV avec l'IRI ou l'OX, le 5-FU/LV fut le standard de traitement de première ligne du CRC métastatique, et il est encore utilisé chez les patients qui ne peuvent tolérer ces régimes de chimiothérapies en triplet. Lorsque qu'utilisé seul, le régime de 5-FU en infusion de de Gramont est favorisé en raison de son profil de toxicité plus avantageux.

L'irinotecan, un inhibiteur de la topoisomérase I, s'est montré efficace dans le traitement du CRC métastatique. En monothérapie, il démontra un bénéfice après un échec du 5-FU chez des patients atteints de CRC métastatiques notamment en prolongeant la survie à un an (36% vs 14%)[36-39].

Trois essais de phase III ont démontré un avantage de survie de la combinaison 5-FU/LV avec IRI par rapport à 5-FU/LV seul[5, 40, 41]. Cette triple thérapie fut associée à un taux de réponse significativement supérieur (49% vs 31%) ainsi qu'à un avantage de survie médiane (17.4 vs 14.1 mois). L'utilisation du 5-FU en infusion, le régime FOLFIRI de Douillard, s'est révélé moins toxique que le régime par bolus[5], et se trouve donc à être le protocole privilégié en clinique.

Il existe néanmoins une grande variabilité dans la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de l'IRI, qui sont influencées particulièrement par l'excrétion biliaire et par un polymorphisme de l'enzyme métabolisant l'IRI, uridine diphosphoglucuronosyltransferase 1A1[42-48]. Conséquemment, la prédictibilité des effets secondaires s'en retrouve affectée.

L'oxaliplatine, quant à lui, est un agent alkylant, plus spécifiquement un sel de métal qui agit indépendamment du cycle cellulaire. Il se lie à l'ADN, préférentiellement aux bases nucléiques guanine et cytosine, et en empêche la réplication[49]. Il est à ce jour le seul dérivé de platine approuvé qui possède une efficacité dans le traitement du CRC métastatique en combinaison avec le 5-FU[50]. L'OX se lie de manière irréversible et à plus de 90% aux protéines sériques telles que l'albumine et les gammaglobulines, ainsi qu'aux érythrocytes. Son passage transmembranaire est aussi régi par de nombreux transporteurs[51-54].

Des études de phase II ont suggéré une efficacité de l'OX seul comme traitement de première ligne du CRC métastatique[55, 56]. Cependant, des données randomisées, bien qu'en contexte de seconde ligne de traitement, n'ont pu démontrer une efficacité significative[57]. L'OX en monothérapie n'est donc pas considéré dans le traitement de première ligne du CRC métastatique.

La combinaison de l'OX avec le 5-FU/LV en infusion, le régime FOLFOX, s'est établie comme un standard de traitement de première ligne du CRC métastatique. Plusieurs essais ont démontré un bénéfice de l'ajout d'OX au 5-FU/LV sur le taux de réponse (51% vs 22%) et la survie sans progression (9 vs 6.2 mois)[58, 59]. Une étude multicentrique a également corroboré ces résultats démontrant une augmentation du taux de réponse (58% vs 24%) et de la survie sans progression (7.6 vs 5.3 mois)[60].

Les données disponibles comparant les protocoles FOLFOX et FOLFIRI suggèrent une absence de différence dans l'efficacité de ces régimes[61-64]. En effet, l'étude GERCOR comparant FOLFOX et FOLFIRI comme première ligne de traitement a révélé des taux de réponse similaires (54% et 56%), ainsi que des survies sans progression (8 et 8.5 mois) et survies globales (20.6 et 21.5 mois) similaires entre les deux groupes[61]. Les deux protocoles peuvent donc être utilisés en première ligne de traitement du CRC métastatique.

La combinaison de la capecitabine avec l'OX (CAPOX) représente une alternative raisonnable comme thérapie de première ligne du CRC métastatique lorsqu'une administration IV de 5-FU n'est pas désirée. L'efficacité et la toxicité de cette combinaison furent étudiées à la fois en contexte de première et seconde ligne de traitement[65-73]. Tous les essais cliniques randomisés comparant CAPOX au protocole FOLFOX ont démontré une efficacité similaire

avec un profil de toxicité différent. Une méta-analyse révéla également des taux de réponse et de survie similaire mais significativement plus de thrombocytopénie, de diarrhée et de syndrome main-pied avec CAPOX tandis que les neutropénies furent plus fréquentes avec FOLFOX[74].

La toxicité de la combinaison de 5-FU/LV et OX dépend à la fois du calendrier d'administration du 5-FU/LV et de la dose d'OX[75, 76]. L'effet secondaire majeur de l'OX est sa neurotoxicité, dont deux syndromes distincts ont été décrits[77, 78]. Une neuropathie sensorielle cumulative et réversible dont l'incidence est de 10-15% lorsque les doses cumulatives d'OX atteignent 850 mg/m<sup>2</sup> et qui augmente par la suite, ainsi qu'un complexe neurosensoriel aigu qui se manifeste par des paresthésies et dysesthésies parfois déclenchées par les températures froides. L'OX est également associé à une toxicité dose dépendante au niveau des sinusoides hépatiques[79] ainsi qu'à des réactions transfusionnelles[80].

Une compréhension plus approfondie des séquences moléculaires de la carcinogénèse du CCR a permis d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques. Le développement d'un apport sanguin est une condition prérequis pour la croissance tumorale. Un des facteurs régissant ce processus d'angiogénèse est le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) dont l'inhibition résulte en une réponse anti-tumorale marquée[81, 82]. Le Bevacizumab (Avastin) est un anticorps monoclonal humanisé ciblant le VEGF. L'ajout du bevacizumab aux différents protocoles de première ligne de traitement du CRC métastatique (FOLFOX, FOLFIRI) offre un avantage de survie médiane de deux mois (19.8 vs 17.6 mois)[83]. Ce modeste avantage vient néanmoins au coût de nombreux effets secondaires tels que l'hypertension et le syndrome néphrotique, les perforations intestinales, une guérison des plaies altérée, des saignements ainsi que des événements thromboemboliques[65, 84-86].

D'autres molécules ciblant le VEGF, telles que l'aflibercept et le ramucirumab, ont également été développées[87, 88].

Des facteurs de croissance tel que le facteur de croissance épidermique et son récepteur (EGFR) sont impliqués dans la croissance tumorale, l'angiogénèse et le développement de métastases[89-91]. L'EGFR est surexprimé dans 70% des CCR et est associé à un stade de maladie avancé[92]. Deux anticorps monoclonaux ciblant l'EGFR (le cetuximab et le panitumumab) sont actifs dans le traitement du CRC métastatique. Toutefois, le statut de mutation du gène RAS oriente la sélection des patients qui pourraient bénéficier de cette thérapie puisqu'elle est efficace uniquement contre les tumeurs arborant un gène RAS sauvage et non-muté[93]. De plus, les patients atteints d'une tumeur muté BRAF démontrent peu de réponse aux anticorps anti-EGFR sans l'ajout d'inhibiteurs de BRAF. Le cetuximab ainsi que la panitumumab ont démontré une efficacité en monothérapie[94], ainsi que combinés à l'IRI[95-103] mais les données furent plus conflictuelles en combinaison avec l'OX [97, 104-109].

Pour les patients atteints de CRC métastatique réfractaire aux thérapies préalablement décrites, des options de thérapie demeurent disponibles telles que le regorafenib (un inhibiteur de tyrosines kinases oral)[110] et le TAS-102 (un agent cytotoxique oral combinant trifluridine et tipiracil)[111, 112]. De plus, l'immunothérapie (pembrolizumab, nivolumab) pour les CRC métastatiques réfractaires avec instabilité microsatellite élevée représente également une stratégie de traitement[113].

Toutefois, ces combinaisons thérapeutiques systémiques seules ne représentent pas la stratégie optimale pour tous les patients avec une maladie de stade IV. En effet, les métastases



péritonéales de CCR sont associées à un moins bon pronostic que les métastases viscérales avec une survie globale médiane de 12.6 vs 17.6 mois respectivement [114, 115]. Les études CAIRO et CAIRO2 ont également démontré une efficacité réduite des traitements systémiques chez les patients atteints de carcinose péritonéale en comparaison avec les patients atteints de CCR métastatique sans CP, suggérant une certaine résistance aux traitements pour expliquer la différence de survie [116].

Le besoin d'un traitement plus efficace pour les patients atteints de carcinose péritonéale a mené à l'avènement de la chirurgie de cytoréduction combinée à la chimiothérapie hyperthermique intrapéritonéale (CHIP). En 1989, Paul H. Sugarbaker a souligné l'efficacité de la chimiothérapie intrapéritonéale (CIP) dans le traitement de la carcinose péritonéale[117]. Selon les principes de traitement de Sugarbaker, la chimiothérapie IV ne pénètre que très peu ou pas dans les nodules de CP. La chimiothérapie IP quant à elle ne pénètre pas les nodules de CP d'une taille supérieure à 2.5 mm[118]. Couplée à une chirurgie de cytoréduction complète visant à réséquer la maladie macroscopique, la CIP permet d'obtenir de grandes concentrations d'un agent cytotoxique au niveau des cellules constituant la CP [119, 120]. De plus, lorsqu'administrée en période périopératoire immédiate, la CIP permet de rejoindre la maladie résiduelle microscopique autrement impossible à atteindre une fois le processus de guérison amorcé. En principe, cette approche thérapeutique est à visée curative, un objectif qui n'est pas envisagé via l'avenue des traitements systémiques seuls.

En 2003, *Verwaal et al.* ont réalisé un essai clinique randomisé démontrant que la chirurgie de cytoréduction suivie d'une CHIP améliorait la survie des patients atteints de CP d'origine colorectale en comparaison au traitement systémique. De plus, *Elias et al.* ont démontré en 2009 que la survie des patients avec une carcinose péritonéale isolée et résécable

atteint 24 mois à l'aide des traitements systémiques modernes tandis que la cytoréduction chirurgicale associée à la CHIP a permis de la prolonger à 63 mois, avec une survie à 5 ans de 51% [121]. En 2016, un essai clinique randomisé piloté par *Cashin et al.* a permis de démontrer un avantage de survie à deux ans du traitement chirurgical combiné à du 5-FU intrapéritonéal en comparaison à une combinaison de 5-FU et d'oxaliplatine systémiques (54% vs. 38% respectivement)[122]. Des séries de cas de patients sélectionnés atteints de CP d'origine colorectale traités par chirurgie de cytoréduction et CIP ont rapporté des survie à 5 ans variant de 20 à 50%[121, 123, 124]

À l'opposé de la discordance des résultats du traitement systémique entre patients atteints de CCR de stade IV avec et sans CP, les résultats des traitements chirurgicaux sont quant à eux comparables. En effet, les patients avec métastases hépatiques de CCR ayant bénéficié d'une résection complète, le standard de traitement actuel, obtiennent une survie similaire à celle des patients avec une CP d'origine colorectale traités par chirurgie de cytoréduction combinée à la CHIP: une survie à 5 ans de 32.1% vs 33.3% pour les patients respectivement atteints de CP et de métastases hépatiques, ainsi qu'une survie médiane de 37 mois identique pour les deux groupes[125].

Le traitement systémique seul ne semble donc plus adéquat pour certains patients avec une CP d'un CCR primaire ou récidivant limitée aux surfaces péritonéales. La prise en charge chirurgicale de la carcinose péritonéale d'origine colorectale par la chirurgie de cytoréduction combinée à la CHIP s'établit comme une option thérapeutique à visée curative pour certains patients sélectionnés. L'amélioration des techniques chirurgicales dont notamment les procédures de péritonectomies, la standardisation de l'administration

peropératoire de la CHIP ainsi que le raffinement des critères de sélection ont permis d'améliorer de manière significative la survie de ces patients.

L'efficacité du traitement de chimiothérapie par la voie intrapéritonéale (IP) peut être améliorée. Pour y parvenir, la concentration des agents utilisés peut être modifiée, de même que la durée ainsi que la température d'administration de la perfusion IP.

La mitomycine-C (MMC) est un antibiotique antinéoplasique dérivé du *Streptomyces caespitosus*. Il s'agit d'un agent alkylant inhibant la synthèse d'ADN et d'ARN avec une activité contre une variété de tumeurs. Aujourd'hui, des agents plus récents ont largement remplacé la MMC comme traitement antinéoplasique systémique à l'exception du traitement du cancer épidermoïde de l'anus[126]. Les effets secondaires les plus communs sont dépendants de la dose et incluent principalement la myélosuppression, les toxicités gastro-intestinales, l'alopécie et les toxicités pulmonaires[127-130]. La MMC et l'OX sont les deux agents IP les plus couramment utilisés en contexte de CHIP dans le traitement de la CP d'origine colorectale[131-133]. En effet, le premier essai clinique randomisé démontrant la supériorité de la chirurgie de cytoréduction combinée à la CHIP au traitement systémique seul utilisa la MMC comme agent IP[134]. Un suivi à 8 ans confirma à nouveau l'avantage du groupe chirurgical avec une survie médiane spécifique à la maladie significativement supérieure pour le groupe chirurgical avec CHIP en comparaison au groupe traité seulement par voie systémique: 22.2 vs 12.6 mois, respectivement[135]. D'autres séries de cas ont également démontré l'efficacité de la MMC comme agent IP en contexte de CHIP pour traiter la CP d'origine colorectale[136, 137]. Des comparaisons entre l'utilisation de la MMC et de l'OX comme molécule IP ont souligné l'absence de différence significative pour justifier l'utilisation d'un de ces deux agents par rapport à l'autre[131, 132, 137-140].

L'hyperthermie, définie comme une température supérieure ou égale à 41°C, a été introduite dans les modalités de traitement des néoplasies pour plusieurs raisons. D'abord pour son effet cytotoxique direct mais également pour son effet potentialisateur démontré avec certains agents cytotoxiques dont la MMC et l'OX. *Rietbroek et al.* ont en effet démontré que l'hyperthermie augmentait clairement la cytotoxicité de l'oxaliplatine de 180% [141]. Plus récemment, une étude de notre laboratoire a démontré que l'hyperthermie limitait l'absorption systémique de l'OX tout en augmentant sa concentration tissulaire locale, ce qui suggère une réduction de sa toxicité systémique [142]. Dans le but d'augmenter la concentration tissulaire locale de l'OX lors de la CHIP et donc d'augmenter son efficacité, plusieurs propositions ont été avancées et certaines adressées. Parmi les moyens énoncés pour améliorer la concentration intra-tissulaire de l'OX lors de la CHIP, l'ajout de vasopresseurs, de même que l'augmentation de la durée de perfusion, de la température, de la dose de l'agent cytotoxique ou du volume de perfusat utilisés pour la CHIP, ainsi que la combinaison d'agents potentialisants, systémiques ou IP, ont été proposés.

Dans une étude de phase I, la dose optimale d'oxaliplatine à utiliser durant la CHIP a été fixée à 460 mg/m<sup>2</sup> dans 2 L/m<sup>2</sup> de perfusat pour 30 à 40 minutes à 43°C[143]. La chirurgie de cytoréduction combinée à la chimiothérapie hyperthermique intrapéritonéale à l'OX s'établit depuis comme un standard de traitement pour certains patients sélectionnés atteints de carcinose péritonéale d'origine colorectale [121, 124, 144, 145].

L'administration intraveineuse (IV) d'OX et de 5-FU a obtenu un succès remarquable dans le traitement systémique du cancer colorectal de stade IV. Depuis l'étude de phase III réalisée par Giacchetti et son groupe[59], il est accepté que le 5-FU combiné au leucovorin potentialise l'action de l'OX. Étant donné que le 5-FU est désormais nécessaire pour

augmenter l'efficacité de l'OX systémique[4, 59, 146], le 5-FU IV est fréquemment utilisé de façon concomitante à l'oxaliplatine IP dans les protocoles de chirurgie cytoréductive combinée à la CHIP. Cependant, le mécanisme de cette interaction ainsi que les modalités les plus favorables de cette combinaison demeurent inconnus. De telles données seraient bénéfiques à la mise en place d'études cliniques. Actuellement, l'oxaliplatine a démontré son efficacité dans le contexte de la CHIP ainsi que lorsqu'administré IV en combinaison avec le 5-FU IV dans le traitement systémique du CCR. Toutefois, l'effet synergique du 5-FU systémique sur la CHIP à l'OX demeure hypothétique. Le 5-FU peut être administré par bolus IV ou en perfusion continue. Sachant qu'à la fois l'OX et le 5-FU ont été démontrés efficaces contre le cancer colorectal et à la lumière des résultats obtenus par le groupe de Giacchetti, il advient de se questionner sur l'effet de l'utilisation systémique du 5-FU sur l'efficacité de l'OX IP durant la CHIP. Les inconvénients de l'ajout du 5-FU IV pendant la CHIP résident principalement dans sa toxicité surajoutée à celle de la CHIP-OX, incluant notamment la myélosuppression ainsi que les toxicités cardiovasculaires et gastro-intestinales. Des considérations de coûts sont également à envisager dans le contexte d'une prise en charge chirurgicale complexe.

Une étude préclinique visant à examiner l'impact du 5-FU IV sur la concentration de l'OX intrapéritonéal dans le contexte d'une CHIP-OX pourrait fournir du support indirect à cette approche. La démonstration que le 5-FU systémique augmente la concentration tissulaire d'oxaliplatine active dans le péritoine appuierait l'utilisation de cette combinaison en CHIP. Pour ce faire, le modèle murin de notre laboratoire s'est avéré être à la fois fiable et reproductible dans l'étude de la pharmacocinétique d'agents cytotoxiques intrapéritonéaux[142, 147, 148].

L'objectif principal de cette étude est donc de démontrer l'effet du 5-FU intraveineux sur la concentration péritonéale de la CHIP à l'OX dans un modèle murin ainsi que d'évaluer l'effet dose-réponse du 5-FU sur la concentration intracellulaire d'OX dans le péritoine.

# Méthodes

## Plan de l'étude

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de l'administration systémique de 5-fluorouracile sur la pharmacocinétique de la chimiothérapie hyperthermique intrapéritonéale à l'oxaliplatine. L'hypothèse de travail, basée sur l'effet de synergie connu entre le 5-FU et l'OX lorsqu'administrés de façon systémique, suppose que l'administration intraveineuse de 5-FU potentialise l'action de l'OX en contexte de CHIP. Cette étude expérimentale vise donc à tester cette hypothèse.

Après l'obtention de l'approbation du Comité de Protection Animale local, vingt-quatre rats Sprague-Dawley mâles pesant en moyenne 320 g (270 - 410 g) avec une surface corporelle moyenne de 0.046 m<sup>2</sup> (0.044 - 0.057 m<sup>2</sup>) ont été sélectionnés. Chaque rat fut soumis à une dose de 5-FU IV en combinaison à une CHIP à l'oxaliplatine de 460 mg/m<sup>2</sup> dans une solution de dextrose 5% à une température de perfusion de 40 °C pour 25 minutes. Tel que présenté dans le **Tableau I**, quatre groupes de rats ont été soumis à différentes conditions expérimentales. Les différentes doses de 5-FU systémique testées furent 0, 100, 400 et 800 mg/m<sup>2</sup>. La première dose de bolus de 5-FU IV choisie fut celle de 400 mg/m<sup>2</sup>, basée sur le protocole décrit par de Gramont *et al*[26]. Des doses variant de 0 à 800 mg/m<sup>2</sup> (le double de la dose initiale) ont par la suite été sélectionnées pour faciliter la détection d'un éventuel effet du 5-FU IV sur l'absorption péritonéale de la CHIP à l'OX.

**Tableau I.** Groupes expérimentaux en fonction des doses d'agents cytotoxiques et de la température de perfusion.

Groupe	Dose de 5-FU IV (mg/m <sup>2</sup> )	Dose d'oxaliplatine IP (mg/m <sup>2</sup> )	Température (°C)
1 (n = 6)	0	460	40
2 (n = 6)	100	460	40
3 (n = 6)	400	460	40
4 (n = 6)	800	460	40

n-: nombre de sujets

Concernant la température du perfusat intrapéritonéal, des études expérimentales ont démontré une augmentation de l'effet cytotoxique de l'OX lorsqu'administrée en hyperthermie[141]. La plupart des équipes de chirurgie oncologique utilisant l'oxaliplatine comme agent de CHIP chauffent la solution de perfusion à une température de 42-43 °C[142]. Dans une étude précédente de notre laboratoire, il a été démontré qu'une température de perfusion dépassant 43 °C est associée à un taux de mortalité supérieur à 50% chez le rat[142]. De plus, cette expérience a permis de prouver que l'absorption péritonéale d'OX IP augmente de façon linéaire avec l'augmentation de la température de perfusion. À la fois pour représenter adéquatement l'effet de l'hyperthermie et pour réduire le risque de mort prématurée des animaux, une température de perfusion n'excédant pas 40 °C a donc été sélectionnée pour cette étude. Considérant que ce modèle est une représentation fiable des effets observés chez



l'humain, les trouvailles chez le rat pourraient correspondre aux changements attendus en clinique[142, 147, 149-152].

Pour standardiser l'expérience, l'administration de 5-FU IV fut suivie d'une période de 30 minutes de perfusion IP hyperthermique avant d'injecter l'OX car le temps nécessaire pour atteindre la température de perfusion désirée une fois la pompe démarrée était variable entre les différents sujets.

## **Procédure chirurgicale et prélèvements des échantillons**

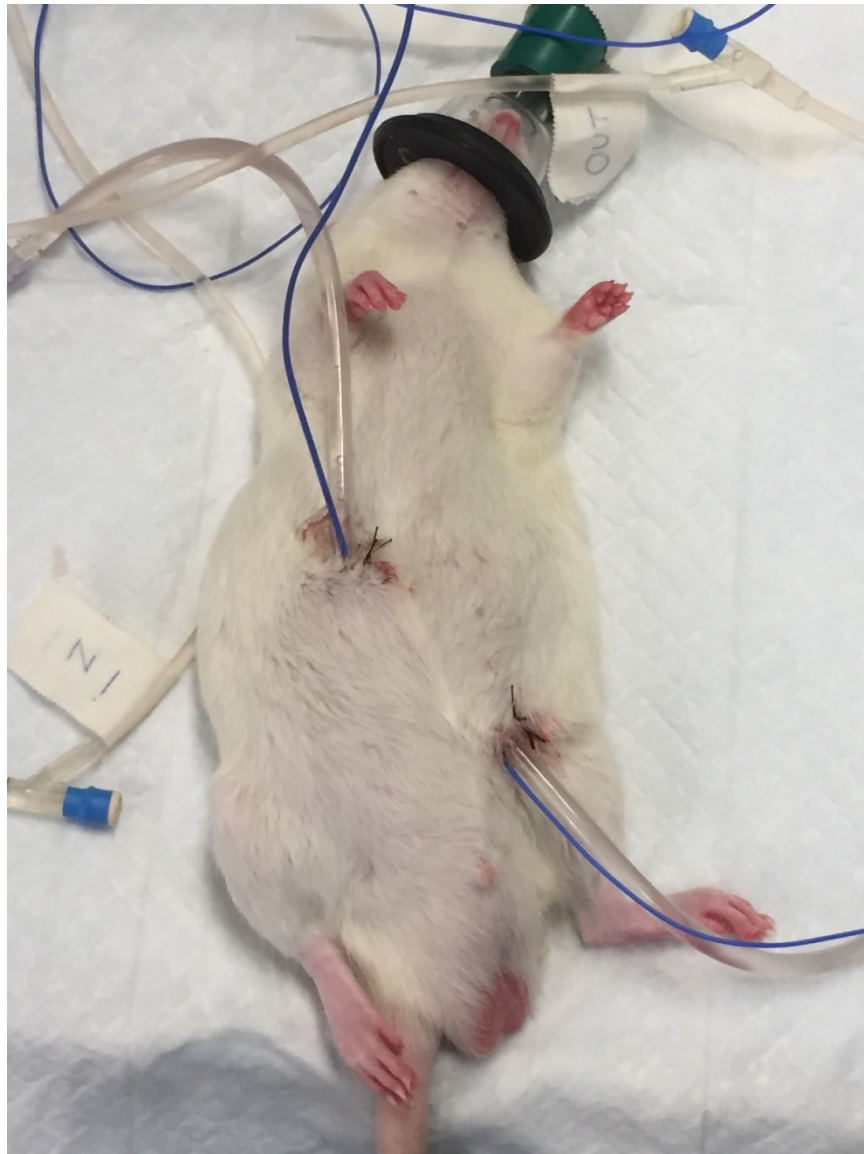
Chaque rat fut placé sous anesthésie générale à l'aide d'isoflurane inhalé de façon continue et standardisée grâce à un masque placé sur le museau. Deux cathéters multiperforés (tubes de Levin de taille 16 French MED-RX 56-6016 avec les extrémités reliées via des connecteurs 1/8-3/32 à des tubulures intraveineuses standard de type JC5439 avec ports d'injection) furent alors placés dans la cavité abdominale via deux incisions de 5 mm et fixés avec des points en bourse. Ces cathéters furent par la suite reliés à la tubulure d'une pompe péristaltique (Gilson, Middleton, WI, USA) (**Figure 1**).

Pour contrôler les températures d'entrée et de sortie, deux sondes thermomètres ont été placées et sécurisées à l'intérieur des cathéters, et branchées à un thermomètre numérique. Avant leur insertion, tous les circuits furent remplis au préalable avec une solution de dextrose 5% pour en évacuer l'air accumulé.

Un cathéter fut placé dans la région sous-costale droite (entrée) tandis que l'autre fut placé dans la fosse iliaque gauche (sortie) pour maximiser l'exposition péritonéale au liquide

de perfusion. Les extrémités des cathéters ont été protégées avec des compresses pour éviter une obstruction par du contenu intra-abdominal. Afin de prévenir les pertes thermiques, les animaux furent placés sur un matelas chauffé à 37°C (**Figure 1**).

**Figure 1.** Photo du modèle expérimental.



La cavité abdominale a ensuite été remplie avec 15 ml de solution dextrose 5% et une circulation en circuit fermé fut alors débutée à l'aide d'une pompe péristaltique (Gilson, Middleton, WI, USA). Le perfusat fut chauffé en immergeant une longueur standardisée de la tubulure dans un bain thermostatique. Le débit de la pompe fut ajusté pour permettre au volume total du circuit (tubulure 53 ml + cavité péritonéale 15 ml + oxaliplatine 20-25 ml) de circuler sept fois pendant la perfusion de 25 minutes, soit un débit moyen de 25 ml/min. Une fois la température intra-abdominale de 40°C atteinte, le 5-FU intraveineux fut administré via une veine au niveau de la queue de l'animal (t0). À partir de ce moment, la perfusion fut maintenue pour 30 minutes avec une surveillance continue de la température qui était affichée avec une précision de +/- 0.1°C par le thermomètre numérique. À t30, l'OX fut administré via un port d'injection à proximité du cathéter d'entrée. La perfusion fut par la suite poursuivie pour 25 minutes. Un massage régulier de l'abdomen fut appliqué pour favoriser une distribution uniforme de la chaleur et du liquide de perfusion. À t55, la pompe péristaltique fut arrêtée et le liquide intra-abdominal fut évacué via un port d'injection. Une laparotomie médiane fut pratiquée et les surfaces péritonéales furent rincées avec 20 ml de solution dextrose 5%. Un millilitre de sang fut prélevé de la veine porte (sang portal) ainsi que de la veine cave inférieure (sang systémique). Un cm<sup>2</sup> de péritoine pariétal fut ensuite prélevé de manière standardisée et immédiatement congelé dans de l'azote liquide. Les échantillons sanguins furent centrifugés pour cinq minutes pour permettre la séparation des éléments cellulaires du plasma qui a été congelé séparément dans l'azote liquide. Tous les échantillons furent par la suite conservés à -80°C. Le prélèvement des différents échantillons fut complété en moins de 25 minutes puis les animaux furent sacrifiés par cardiectomie.

## **Préparation et analyse des échantillons**

### **Dosage de l'oxaliplatine**

La concentration d'oxaliplatine fut mesurée à partir des biopsies péritonéales fraîchement dégelées en utilisant la Chromatographie Liquide à Haute Performance (Système Gold de Beckman) suivant la méthode préalablement publiée[142]. La colonne utilisée fut une Synergi4 $\mu$  RP Hydro-80A 250 x 4, 6 mm (Phenomenex, Torrance, CA). La phase mobile fut un mélange de 5mM d'acide 1-Heptane sulfonique, pH 3.4 et de Méthanol 90% à 1.0 ml/min selon le gradient préoptimisé.

Le contenu en oxaliplatine fut détecté à 255 nm. Une courbe standard (variant de 2.5 à 100  $\mu$ M) fut préparée avec de l'oxaliplatine pure (Sanofi, Laval, Qc, Canada) mélangée avec 10% de sérum de rat, et traitée et dosée en tant qu'échantillon sérique inconnu comme étalonnage.

L'OX fut dosée sur les biopsies péritonéales prélevées immédiatement à la fin de l'expérience et instantanément congelées dans de l'azote liquide. Les pièces tissulaires ont été conservées congelées à -80°C jusqu'au début de l'extraction. Toutes les biopsies furent rapidement pesées et puis homogénéisées dans du NaCl 0.9% en respectant un ratio de 20 grammes de tissu par 100 ml. Les homogénats furent par la suite soniqués, puis clarifiés par centrifugation à 2800 G pour 10 minutes à 4°C. Le surnageant fut successivement filtré sur une unité de filtration Ultrafree CL (seuil 0.22  $\mu$ m), puis sur une unité de filtration Amicon

Ultra-4 (seuil 30 kDa), avec une centrifugation à 2800 G pour 20 minutes à 4°C à chaque reprise. Les filtrats finaux furent gardés sur glace jusqu'à l'injection dans la machine de Chromatographie Liquide à Haute Performance.

Avant leur injection sur la colonne de chromatographie, tous les échantillons de plasma et tissu furent mélangés avec un tampon de dosage pour obtenir une concentration finale de 50 mM NaHCO<sub>3</sub>; 1.05 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> à un pH de 7.4.

### **Dosage du 5-fluorouracile**

La concentration de 5-FU fut dosée à la fois sur les biopsies péritonéales et dans le sérum recueilli de la veine cave à la fin de l'expérience. Le dosage a été fait d'après une modification de la méthode décrite par *Pi et al*[153]. Un aliquot de 250 µl du filtrat de 0.22 µm de l'homogénat péritonéal (obtenu après clarification - voir dosage de l'oxaliplatine) a été mélangée avec 50 µL de tampon d'acétate d'ammonium 10 mM à un pH de 3.5 et avec 1.5 mL d'acétate d'isopropanol-ethyl (15: 85, v/v). Un mélange identique fut réalisé pour le sérum. Ce mélange fut traité dans un générateur de vortex pour 3 minutes puis centrifugé à 8000 G pour 10 minutes. La phase organique fut délicatement récupérée pour éviter toute contamination par la phase aqueuse. Les échantillons ont été séchés à température ambiante sous un courant d'air. Les résidus secs furent conservés à -20°C jusqu'à l'injection sur Chromatographie Liquide à Haute Performance. Au moment du dosage, les échantillons ont été reconstitués avec 100 µL de phase mobile et filtrés dans un filtre 0.22 µm GHP (Pall Canada, St-Laurent, Qc, Canada) juste avant l'injection.

Des aliquots de 20  $\mu$ L furent utilisés pour le dosage de 5-FU. Ceci a été réalisé en utilisant la même Chromatographie Liquide à Haute Performance avec la même colonne que pour le dosage d'oxaliplatine. La phase mobile, composée d'acétonitrile et d'acétate d'ammonium 10 mM à un pH de 3.5, fût maintenue dans des conditions isocratiques (2.5: 97.5 v/v) à un débit constant de 0.8 mL/min. La température de la colonne fut maintenue à 25 °C. Les analytes furent détectés à 265 nm. Une courbe standard (variant de 0.1 à 250  $\mu$ M) fut préparée avec du 5-FU pur (Toronto Research Chemical, Toronto, On, Canada) mélangé avec 10% de sérum de rat, et traité et dosé en tant qu'échantillon sérique inconnu comme étalonnage.

## **Analyse statistique**

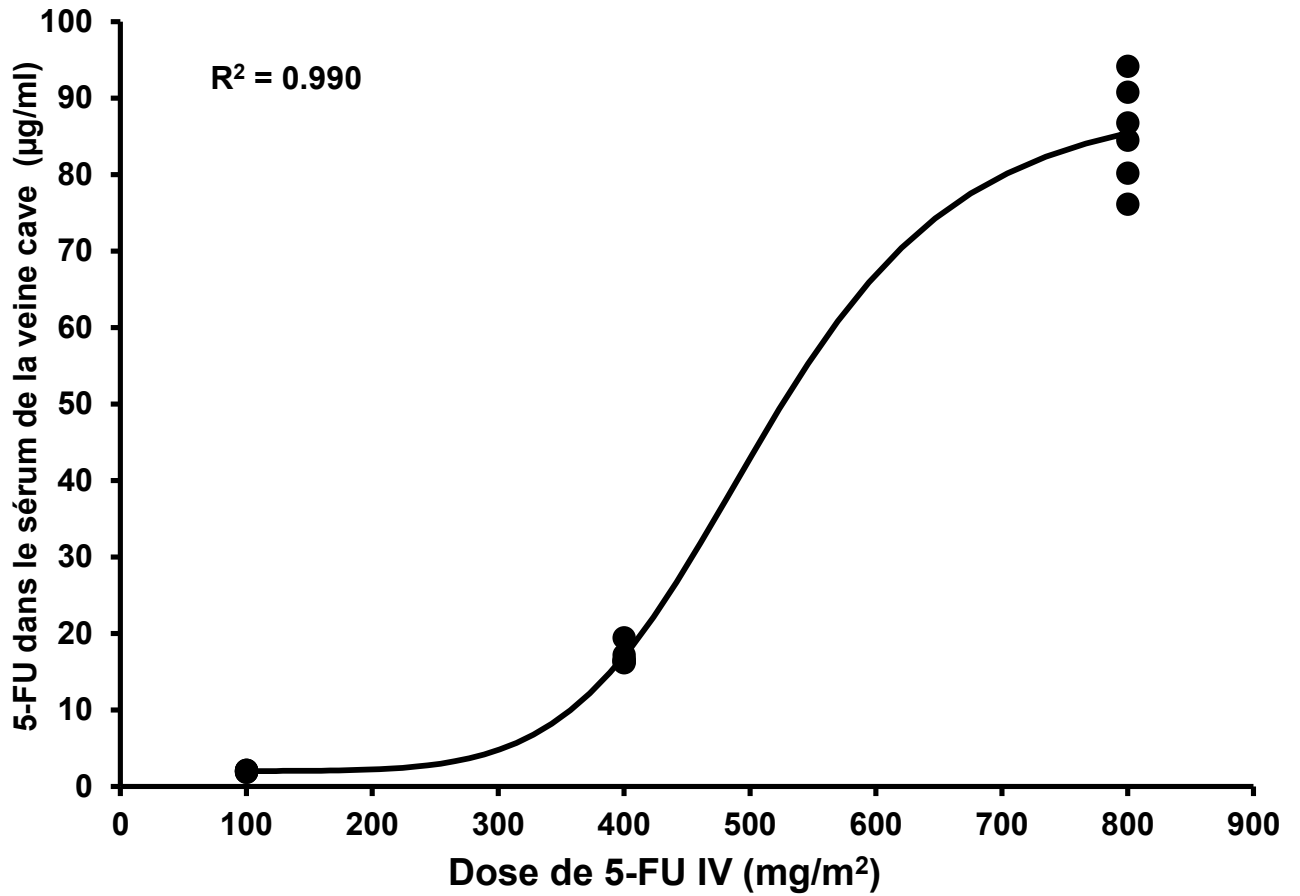
Les différentes concentrations d'oxaliplatine et de 5-FU obtenues par chromatographie ont été comparées en utilisant le logiciel SPSS v 11.5. Une analyse de variance (ANOVA) à un facteur contrôlé fut utilisée pour comparer les concentrations associées aux différentes doses de 5-FU pour chaque échantillon. Lorsqu'une différence significative fut trouvée, elle fut suivie d'une comparaison post-hoc par test de Sheffe. Une valeur  $p < 0.05$  a été considérée significative.

## Résultats

Trente et un rats furent utilisés, cependant sept ne furent pas analysés, et vingt-quatre rats furent finalement inclus. Les sept rats retirés de l'analyse sont décédés prématurément pendant la procédure ou furent l'objet d'une déviation de protocole (fuite de l'agent de chimiothérapie au moment de l'injection, présence d'air dans le circuit, ou administration du mauvais agent intrapéritonéal). Chez les rats inclus, aucune fuite ou obstruction du système de perfusion ne fut observée pendant les procédures. Une fois la température de perfusion atteinte, les variations de température du perfusé ont été minimales ( $<1.0^{\circ}\text{C}$ ).

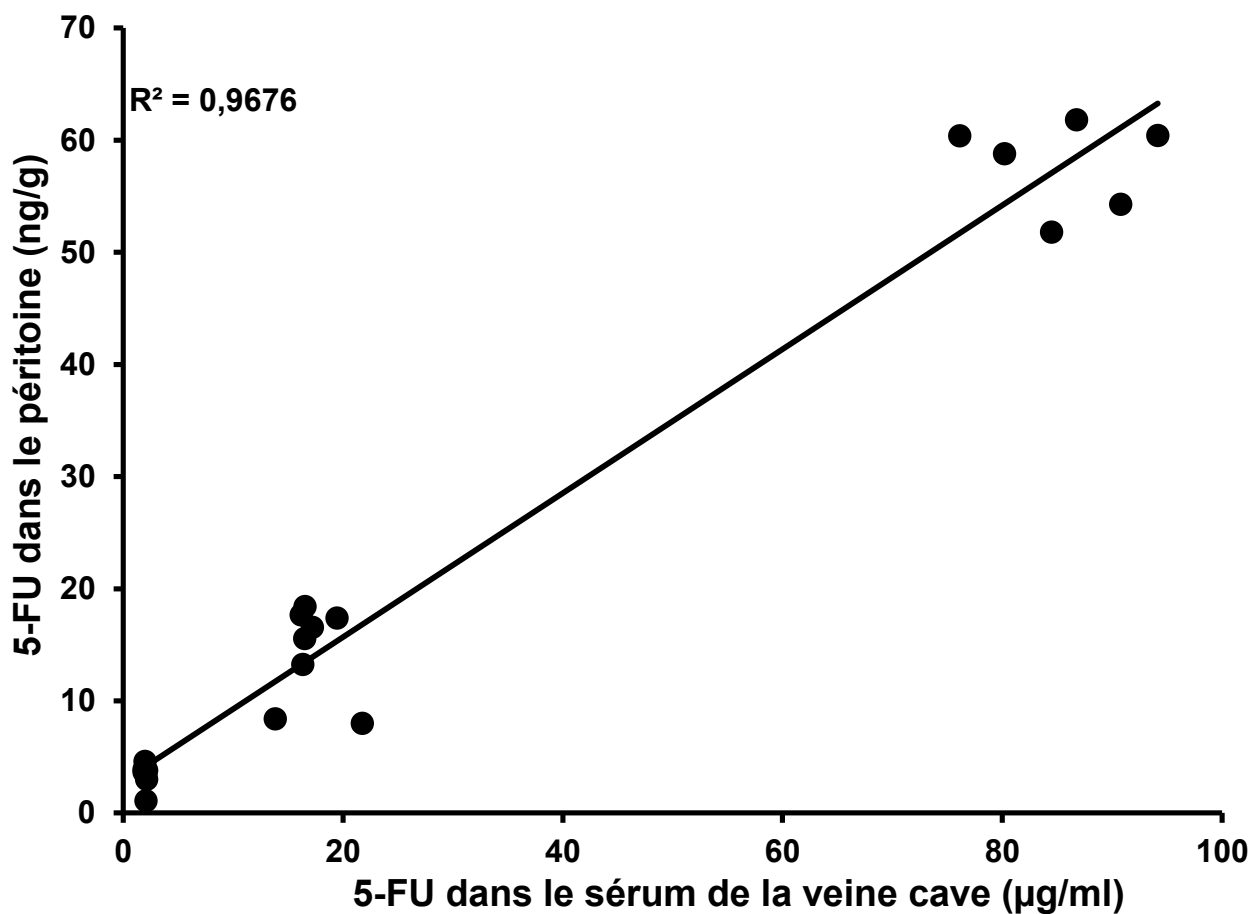
L'effet de la dose de 5-FU sur les concentrations systémiques et péritonéales de 5-FU est présenté dans les **Figures 2 et 3**. La concentration de 5-FU dans le sérum de la veine cave augmenta de façon proportionnelle à la dose de 5-FU IV administrée ( $R^2 = 0.990$ ). Une augmentation proportionnelle de la concentration péritonéale de 5-FU en relation avec la concentration de 5-FU dans le sérum de la veine cave fut également observée ( $R^2 = 0.9676$ ).

**Figure 2.** Relation entre la dose de 5-FU administré IV et la concentration de 5-FU dans le sérum de la veine cave 30 minutes post-injection.



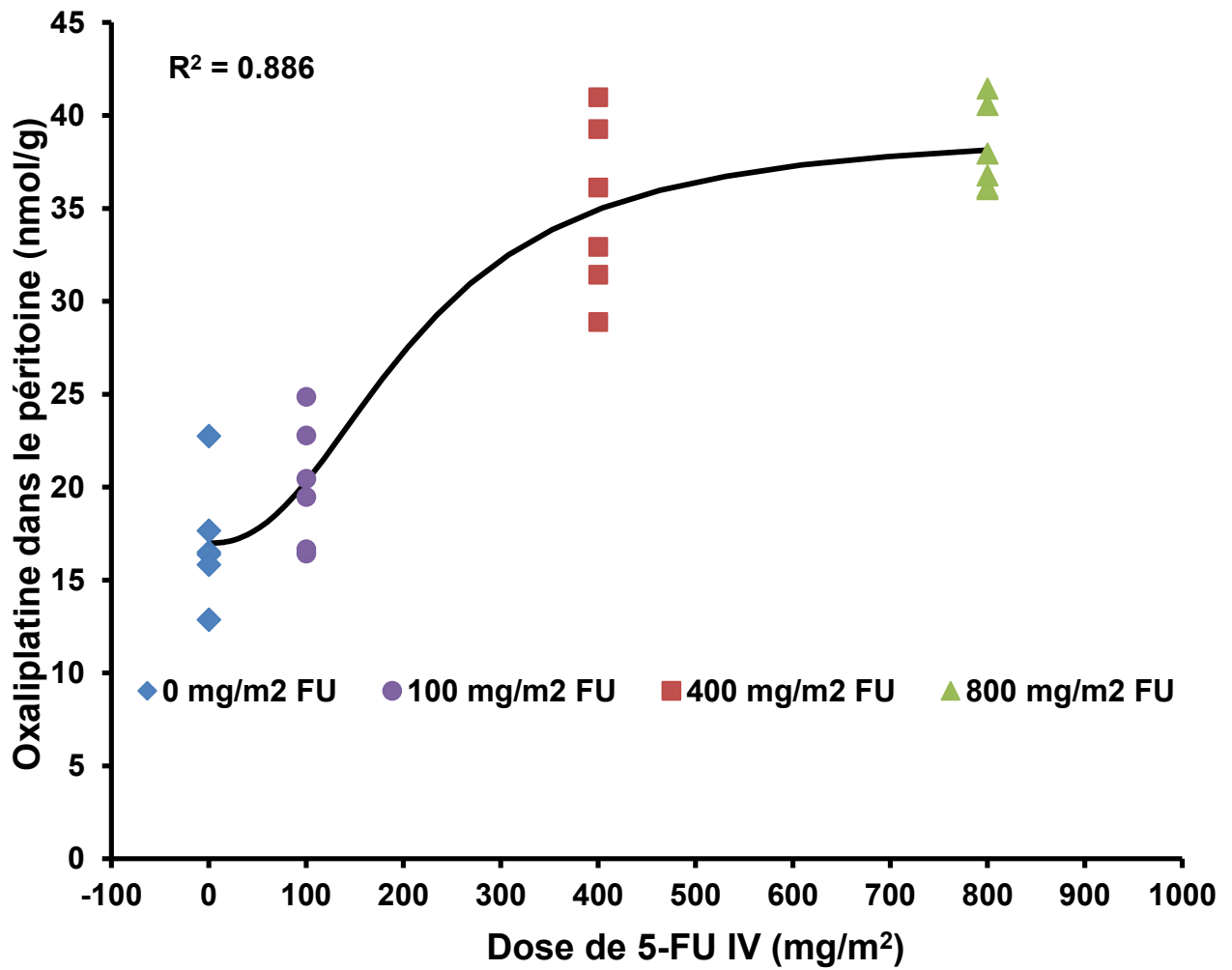


**Figure 3.** Corrélation entre la concentration de 5-FU dans le sérum de la veine cave et la concentration de 5-FU dans le péritoine.



Tel que démontré dans la **Figure 4** et le **Tableau II**, la concentration péritonéale d'oxaliplatine augmenta de manière significative (17.0, 20.1, 34.9 and 38.1 nmol/g,  $p < 0.0001$ ) avec chaque dose croissante de 5-FU IV (0, 100, 400 et 800 mg/m<sup>2</sup>, respectivement).

Figure 4. Corrélation entre la dose de 5-FU administré IV et la concentration péritonéale de l'oxaliplatine.



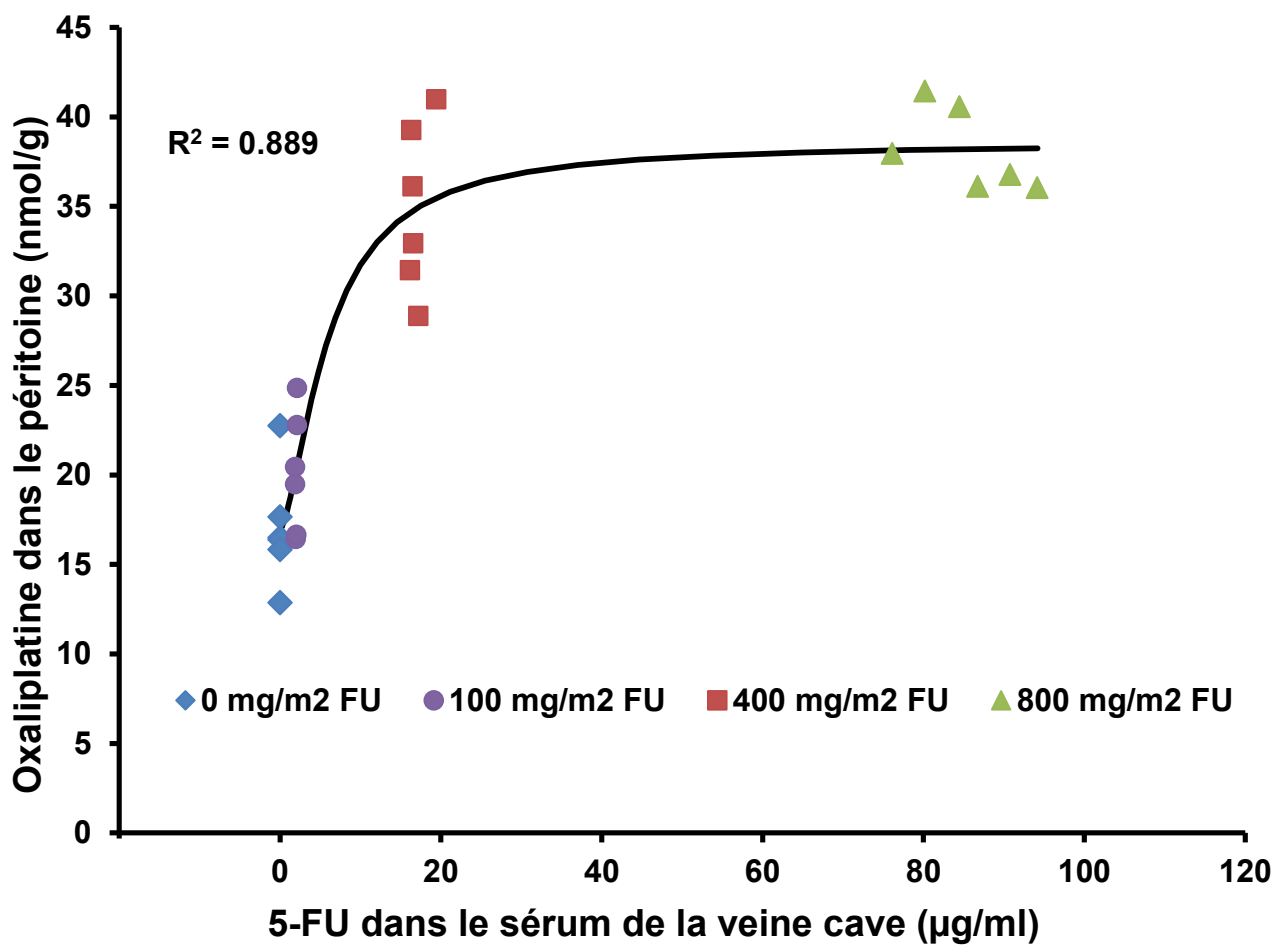
**Tableau II.** Concentrations moyennes d'oxaliplatine dans le péritoine en fonction des différentes doses de 5-FU IV.

Dose de 5-FU IV (mg/m <sup>2</sup> )	Concentration d'oxaliplatine (nmol/g) Moyenne (écart-type)
0	17.0 (3.2)
100	20.1 (3.3)
400	34.9 (4.7)
800	38.1 (2.3)

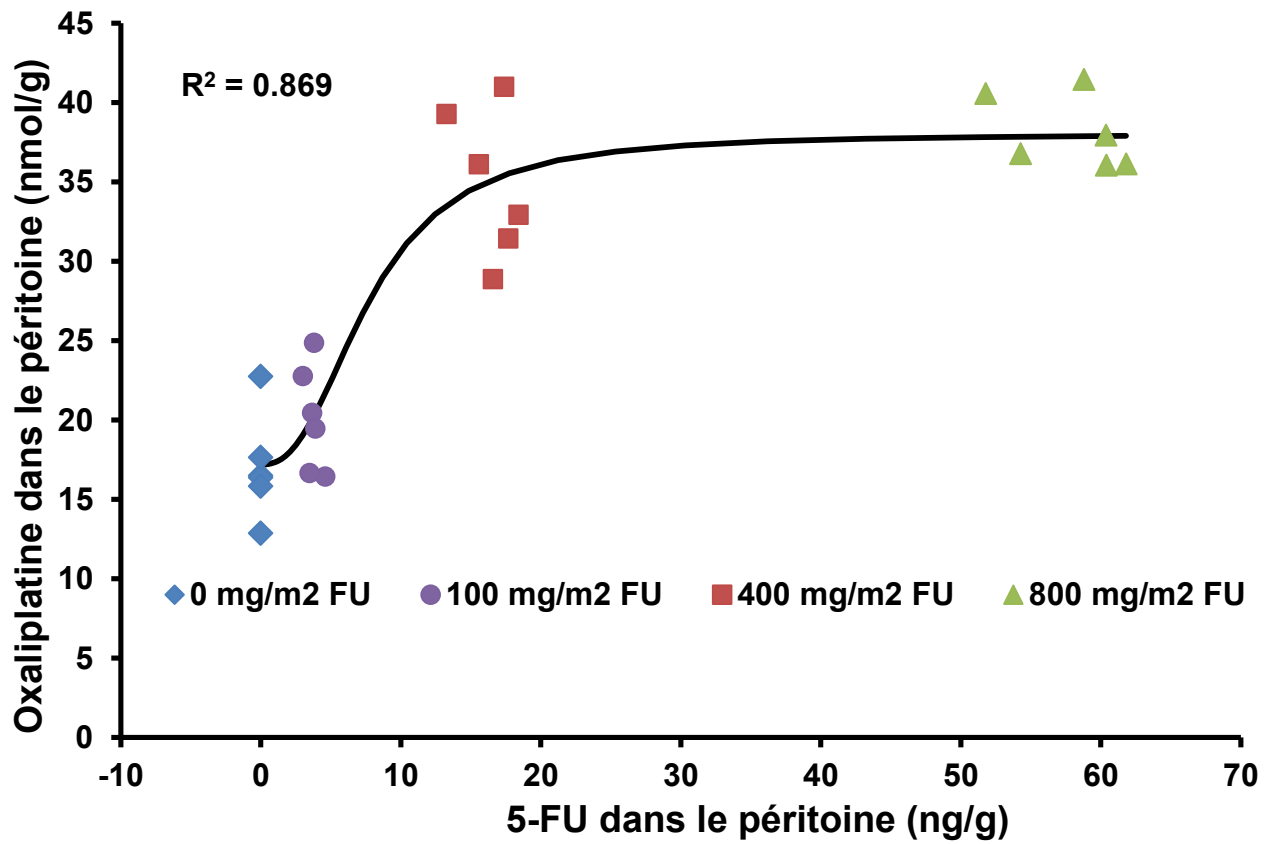
L'effet de la concentration systémique de 5-FU sur la concentration péritonéale d'OX est illustré dans la **Figure 5**. Lorsque la concentration systémique de 5-FU augmenta, la concentration péritonéale d'OX augmenta significativement (ANOVA,  $p < 0.0001$ ). De même, à chaque augmentation de concentration péritonéale de 5-FU, une augmentation significative de la concentration péritonéale d'OX fut observée (ANOVA,  $p < 0.0001$ ) (**Figure 6**).

Toutefois, l'effet des doses croissantes de 5-FU IV sur la concentration péritonéale d'OX atteignit un plateau entre les doses de 400 et 800 mg/m<sup>2</sup> de 5-FU IV (**Figure 4-6**).

Figure 5. Corrélation entre la concentration de 5-FU dans le sérum de la veine cave et la concentration péritonéale d'oxaliplatine.



**Figure 6.** Corrélation entre la concentration péritonéale de 5-FU et la concentration péritonéale d'oxaliplatine.



## Discussion

La carcinose péritonéale est une manifestation fréquente de l'évolution naturelle du cancer colorectal. Environ 8% des patients au moment de la résection du primaire, et jusqu'à 25% des patients avec des CCR récidivants vont développer de la maladie métastatique confinée aux surfaces péritonéales[154].

La stratégie de traitement systémique actuel, alliant chimiothérapie cytotoxique et agents biologiques, s'est montrée bénéfique pour les patients atteints de CCR métastatiques non résécables avec une survie médiane allant jusqu'à parfois 30 mois. Ces résultats proviennent de larges essais cliniques randomisés multicentriques dans lesquels la majorité des patients inclus étaient atteints de métastases hépatiques et/ou pulmonaires mais que très peu de CP isolée [116, 155, 156]. La CP est difficile à caractériser avec les modalités actuelles d'imagerie et plusieurs patients atteints de CP présentent aussi d'autres sites d'atteinte métastatique ce qui explique en partie la sous-représentation de ces patients dans ces études. Conséquemment, le devenir des patients atteints de CP isolée traités avec les thérapies systémiques modernes demeure considérablement méconnu et cette stratégie de traitement est donc extrapolée à partir d'un groupe de patients différents de ceux qui sont atteints d'une maladie métastatique disséminée et non résécable.

L'avènement de la chirurgie de cytoréduction combinée à la CHIP a permis d'augmenter significativement la survie de certains patients sélectionnés atteints de CP d'origine colorectale[121, 157-165]. Ce traitement chirurgical est relativement récent[166-

168]. En effet, avant 1989, les cas de guérison n'étaient qu'anecdotiques et le pronostic des patients atteints de CP d'origine colorectale demeurait très sombre. Depuis, des survies à long-terme, variant de 20 à 50% de survie à 5 ans, ont été démontré dans plusieurs séries de cas de patients traités par une cytoréduction chirurgicale combinée à la CHIP[135, 169-181]. La sélection des patients à qui cette option chirurgicale peut être offerte représente un élément clé de la réussite du traitement. Certains facteurs pronostics ont été mis de l'avant par Sugarbaker et ses collègues[182]. L'étendue de la CP influence particulièrement les résultats de la chirurgie de cytoréduction combinée à la CHIP. L'index de carcinose péritonéale (ICP) de Sugarbaker permet de la mesurer de manière reproductible et fiable. La cavité abdominale est divisée en 13 régions. Chaque région est subséquentement évaluée pour le degré de CP et un score de 0 à 3 lui est attribué (0 = aucune tumeur, 1 = nodules de moins de 5 mm, 2 = nodules de 5 mm à 5 cm, 3 = nodules de plus de 5 cm) pour un score maximal théorique de 39. Le degré de complétion de la cytoréduction chirurgicale (cc), évalué également par un score (cc0 = aucune maladie macroscopique visible, cc1 = maladie résiduelle de moins de 2.5 mm, cc2 = maladie résiduelle de 2.5 mm à 2.5 cm, cc3 = maladie résiduelle de plus de 2.5 cm), est d'une importance particulière puisque la chimiothérapie ne pénètre pas adéquatement les nodules de CP de plus de 2.5 mm. L'âge, le statut de performance de même que la biologie de la tumeur doivent également être pris en considération lors de la sélection des patients pour une chirurgie cytoréductive avec CHIP[183].

Hormis l'OX, la MMC est l'agent le plus fréquemment utilisé en contexte de CHIP. Ses résultats cliniques favorables lorsqu'utilisée durant la CHIP furent démontré dans le traitement de la CP d'origine colorectale[134, 135]. La MMC IP est également utilisée dans le traitement de la CP d'origine appendiculaire, ainsi que du pseudomyxome peritonei et du mésothéliome

péritonéal malin[138, 159, 184]. Le 5-FU, IV ou IP, n'est désormais que très peu employé dans un contexte de CHIP[122, 169]. De plus, plusieurs essais cliniques randomisés évaluant les bénéfices de la CHIP dans différents contextes sont actuellement en cours. Parmi ceux-ci, mentionnons l'étude COLOPEC visant à évaluer l'efficacité de la CHIP adjuvante dans la prévention du développement de la CP chez les patients atteints de cancer colorectal à haut risque de récurrence dont le protocole inclut l'administration de 400 mg/m<sup>2</sup> de 5-FU IV en conjonction avec une CHIP à l'oxaliplatine[185]. Un essai clinique multicentrique de phase III, ProphyloCHIP, ciblant une population similaire, vise à comparer la surveillance postopératoire à une deuxième exploration chirurgicale systématique en vue de pratiquer une cytoréduction chirurgicale avec CHIP-OX. L'essai Prodiges 7, quant à lui, vise à évaluer le bénéfice ajouté de la CHIP à une cytoréduction complète et ses résultats sont pressentis pour démontrer la contribution de la chirurgie dans le traitement de la CP[186].

Beaucoup d'efforts sont dirigés vers l'amélioration de cette méthode de traitement, tant au niveau de la sélection des patients que des techniques chirurgicales et de la potentialisation de la CHIP. Conséquemment, de nombreuses interventions ont été d'emblée mises en pratique. Une des stratégies visant à potentialiser l'effet de la CHIP fut de se servir du 5-FU IV durant la CHIP-OX en se basant sur l'effet synergique exercé par le 5-FU et l'oxaliplatine lorsque les deux sont administrés de façon systémique [4, 59, 146, 187, 188]. Le 5-FU systémique est d'ailleurs empiriquement utilisé en combinaison avec la CHIP à l'OX par plusieurs équipes chirurgicales. Cependant, la démonstration que cette pratique empirique mène à des bénéfices cliniques n'a pas encore été faite.

Notre étude a démontré que des doses croissantes de 5-FU IV mènent à des augmentations significatives de la concentration péritonéale de 5-FU. Cette observation appuie



donc l'utilisation de régimes de chimiothérapie à base de fluoropyrimidine IV pour le traitement systémique de la carcinose péritonéale d'origine colorectale[26].

La trouvaille la plus importante de cette étude expérimentale est la confirmation que l'administration systémique de 5-FU mène à une augmentation de la concentration d'OX dans le péritoine lorsqu'administré en intrapéritonéal.

Les concentrations tissulaires d'oxaliplatine, comme la plupart des molécules cytotoxiques, n'ont jamais été directement associées à des résultats cliniques. Cependant, l'obtention de concentrations péritonéales élevées d'OX représente un objectif biologique théoriquement avantageux dans le traitement local des métastases péritonéales. La détection d'OX dans le tissu péritonéal en forme active par chromatographie suggère que le 5-FU systémique accroît l'activité de l'OX. Bien qu'assumée par plusieurs investigateurs, une telle relation n'avait jamais été démontrée dans le contexte de la CHIP. Cette étude a également démontré que la concentration péritonéale d'OX augmente en corrélation avec des concentrations croissantes de 5-FU systémique et péritonéal. À titre d'exemple, l'administration de 400 mg/m<sup>2</sup> 5-FU IV a plus que doublé la concentration cellulaire péritonéale d'OX. En comparant aux résultats d'une expérience précédente, cette augmentation est supérieure à celle résultant de l'augmentation de la température de perfusion de l'OX de 37 à 43°C, et est similaire à celle résultant de l'administration du double de la concentration intrapéritonéale d'OX [142]. Ces résultats suggèrent donc une interaction locale entre les deux molécules. Aucune interaction similaire n'a jamais été décrite concernant l'effet synergique potentiel entre l'OX et le 5-FU systémiques[6, 189-191]. L'augmentation de la concentration tissulaire d'OX intrapéritonéal engendrée par le 5-FU systémique semble donc résulter d'une interaction particulière au sein du péritoine. D'autres fluoropyrimidines ont démontré une

efficacité lorsque combinées à l'OX IV, cependant ces agents sont administrés par voie orale. Dans le contexte de la CHIP, ils s'avèrent donc moins avantageux que le 5-FU IV[65, 74]. Les mécanismes qui sous-tendent une telle interaction demeurent toutefois inconnus. Hypothétiquement, le 5-FU pourrait induire la formation d'adduits d'OX plus stables et par le fait même augmenter la concentration d'OX péritonéal. Dans une étude précédente, il fut démontré que la chaleur accroît l'absorption péritonéale de l'OX IP[142]. Par conséquent, des concentrations péritonéales plus importantes d'OX disponible pour interagir avec le 5-FU pourrait favoriser ce développement d'adduits stables d'OX. Une augmentation de la biodisponibilité de l'OX administré en IP pourrait également expliquer ces résultats. En effet, sa liaison aux protéines plasmatiques pourrait être diminuée par l'administration IP. De plus, une compétition du 5-FU pour cette liaison aux protéines sériques ainsi qu'une compétition également au niveau des transporteurs membranaires pourrait influencer la concentration péritonéale d'OX. Une augmentation de la perméabilité des membranes cellulaires en contexte de CHIP pourrait également contribuer aux résultats observés. De plus, l'effet du 5-FU sur la vasoconstriction artérielle pourrait également être contributif. Les fluoropyrimidines ont été associées à des toxicités vasculaires, notamment aux événements cardiaques. Elles induisent des infarctus du myocarde, de l'angine, ainsi que des arythmies[192]. Cet effet serait dû, du moins en partie, à une activité vasospastique augmentée[193-195]. Ainsi, un vasospasme secondaire au 5-FU pourrait induire un effet réservoir dans le péritoine pour l'OX. Néanmoins, des expériences supplémentaires sont nécessaires pour vérifier ces hypothèses.

Une autre trouvaille importante de cette étude réside dans l'observation que bien que la concentration péritonéale d'OX augmente avec des doses croissantes de 5FU IV, elle semble atteindre un plateau entre les doses de 400 et 800 mg/m<sup>2</sup>. Ce résultat est d'intérêt majeur

puisque'il implique une limite à cette interaction entre les deux molécules, suggérant donc que des doses plus élevées de 5-FU pourraient conduire à plus d'effets indésirables avec peu d'effet cytotoxique bénéfique additionnel.

Les résultats de cette étude ont une signification clinique importante car ils justifient l'utilisation du 5-FU IV en combinaison avec l'OX IP hyperthermique. Par ailleurs, cette expérience explique la toxicité qui pourrait résulter de l'administration du 5-FU IV dans ce contexte. De plus, cette étude renseigne sur la dose optimale de 5-FU à administrer pour potentialiser la CHIP à l'OX. Bien que ces données ne soient pas tirées d'études cliniques, leur impact au niveau pratique ainsi que leurs ramifications possibles en recherche clinique ne sont pas négligeables.

Finalement, dans cette étude, les échantillons furent prélevés uniquement à la fin de la perfusion péritonéale, ce qui n'a pas permis de construire des courbes qui caractérisent parfaitement la pharmacocinétique du 5-FU IV et de l'OX intrapéritonéal. Bien que les résultats obtenus suggèrent des différences significatives dans les diverses concentrations mesurées lorsque les doses varient, des échantillonnages multiples auraient reflété plus adéquatement la distribution des molécules pendant ainsi qu'après la perfusion intrapéritonéale. Toutefois, ces échantillonnages sériés sont difficiles à obtenir chez le modèle murin car chaque prise de sang modifie significativement le volume sanguin total. De plus, chaque échantillon tissulaire place l'animal à risque de décès prématuré.

L'absence de cytoréduction chirurgicale est également une limitation du modèle animal. La cytoréduction chirurgicale, les péritonectomies, ainsi que la maladie résiduelle, pourraient certainement altérer la pharmacocinétique de l'OX IP. Néanmoins, l'étendue des

péritonectomies est très variable et la surface péritonéale viscérale résiduelle après cytoréduction demeure considérable. Ce modèle murin permet donc tout de même une représentation convenable de la concentration péritonéale malgré l'absence de cytoréduction.

Des biopsies d'organes solides ou de paroi intestinale n'ont pas été prélevées puisque l'étude s'intéressait uniquement à la pharmacocinétique du tissu péritonéal, cible d'intérêt du traitement de la CP. Considérant la standardisation de la procédure, cette expérience devrait représenter adéquatement la concentration péritonéale pariétale, aussi bien que viscérale, des différents agents étudiés.

Une autre limite de cette étude est l'effectif limité des échantillons, un problème fréquent des études animales.

## Conclusion

Cette étude confirme que le 5-FU systémique potentialise la concentration cellulaire péritonéale de l'OX administrée par voie IP en hyperthermie. La dose optimale de 5-FU IV à administrer en combinaison avec la CHIP à l'OX semble être 400 mg/m<sup>2</sup>. Ces résultats représentent d'importants arguments pour l'utilisation du 5-FU IV en combinaison avec la CHIP à l'OX.

Davantage d'études sont toutefois nécessaires pour clarifier les mécanismes sous-jacents de cette interaction ainsi que pour confirmer ces résultats au niveau clinique. Des études précliniques sur un modèle avec carcinose implantée visant à mesurer la réponse tumorale aux différentes modifications engendrées par la cytoréduction chirurgicale et la CHIP seraient d'un intérêt substantiel et pourraient se développer en une avenue future.

Cette étude s'insère au sein d'un contexte de recherche active visant à l'amélioration des résultats de la chirurgie de cytoréduction combinée à la CHIP dans le traitement de la CP d'origine colorectale. L'évolution et l'amélioration des options de traitements systémiques du CCR métastatique permettront de peaufiner les critères de sélection des patients atteints de CP candidats à une cytoréduction chirurgicale combinée à la CHIP. Largement basés sur l'index de carcinose péritonéale, sur l'estimation de la complétion de la cytoréduction chirurgicale, ainsi que sur des facteurs liés au patient et à l'histologie tumorale, les critères de sélections se raffineront pour inclure l'évaluation de la biologie tumorale et de sa réponse aux thérapies systémiques nouvelles. Ainsi, les contextes cliniques appropriés (par exemple, en traitement

prophylactique vs thérapeutique, ou en association avec des métastases extra-péritonéales résecables) pour la cytoréduction chirurgicale avec CHIP continueront d'évoluer, de même que les indications de la CHIP en addition à la chirurgie de cytoréduction seule (par exemple selon l'ICP). Les séquences thérapeutiques alliant traitements systémiques et chirurgicaux se verront également changer.

Pour conclure, notre étude se veut une base fondamentale aux procédés et aux hypothèses cliniques que le traitement d'une maladie aussi complexe et létale que la CP d'origine colorectale engendre. Le devenir et la survie des patients atteints de CP d'origine colorectale reposent en grande partie sur les progrès réalisés par la recherche aussi bien fondamentale que clinique, une recherche alimentée par l'objectif ultime d'une guérison complète.

## Bibliographie

1. Jayne, D.G., et al., *Peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer*. Br J Surg, 2002. **89**(12): p. 1545-50.
2. Glehen, O., et al., *Natural history of peritoneal carcinomatosis from nongynecologic malignancies*. Surg Oncol Clin N Am, 2003. **12**(3): p. 729-39, xiii.
3. Esquivel, J., et al., *Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in the management of peritoneal surface malignancies of colonic origin: a consensus statement*. Society of Surgical Oncology. Ann Surg Oncol, 2007. **14**(1): p. 128-33.
4. Giacchetti, S., et al., *Phase III trial comparing 4-day chronomodulated therapy versus 2-day conventional delivery of fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin as first-line chemotherapy of metastatic colorectal cancer: the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Chronotherapy Group*. J Clin Oncol, 2006. **24**(22): p. 3562-9.
5. Douillard, J.Y., et al., *Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial*. Lancet, 2000. **355**(9209): p. 1041-7.
6. Joel, S.P., et al., *Lack of pharmacokinetic interaction between 5-fluorouracil and oxaliplatin*. Clin Pharmacol Ther, 2004. **76**(1): p. 45-54.
7. Sobrero, A.F., C. Aschele, and J.R. Bertino, *Fluorouracil in colorectal cancer--a tale of two drugs: implications for biochemical modulation*. J Clin Oncol, 1997. **15**(1): p. 368-81.
8. Bertucci, C., et al., *The binding of 5-fluorouracil to native and modified human serum albumin: UV, CD, and 1H and 19F NMR investigation*. J Pharm Biomed Anal, 1995. **13**(9): p. 1087-93.
9. Sulkowska, A., et al., *Competition of drugs to serum albumin in combination therapy*. Biopolymers, 2004. **74**(3): p. 256-62.
10. Haggmann, W., et al., *ATP-binding cassette C transporters in human pancreatic carcinoma cell lines. Upregulation in 5-fluorouracil-resistant cells*. Pancreatology, 2009. **9**(1-2): p. 136-44.
11. Tsujie, M., et al., *Human equilibrative nucleoside transporter 1, as a predictor of 5-fluorouracil resistance in human pancreatic cancer*. Anticancer Res, 2007. **27**(4B): p. 2241-9.
12. Kobayashi, Y., et al., *Transport mechanism and substrate specificity of human organic anion transporter 2 (hOat2 [SLC22A7])*. J Pharm Pharmacol, 2005. **57**(5): p. 573-8.
13. Yuan, J., et al., *Role of BCRP as a biomarker for predicting resistance to 5-fluorouracil in breast cancer*. Cancer Chemother Pharmacol, 2009. **63**(6): p. 1103-10.
14. van Kuilenburg, A.B., et al., *Lethal outcome of a patient with a complete dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency after administration of 5-fluorouracil: frequency of the common IVS14+1G>A mutation causing DPD deficiency*. Clin Cancer Res, 2001. **7**(5): p. 1149-53.

15. O'Dwyer, P.J., et al., *Fluorouracil modulation in colorectal cancer: lack of improvement with N -phosphonoacetyl- l -aspartic acid or oral leucovorin or interferon, but enhanced therapeutic index with weekly 24-hour infusion schedule--an Eastern Cooperative Oncology Group/Cancer and Leukemia Group B Study*. J Clin Oncol, 2001. **19**(9): p. 2413-21.
16. Meta-analysis Group In, C., et al., *Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer*. J Clin Oncol, 1998. **16**(1): p. 301-8.
17. Meta-Analysis Group In, C., et al., *Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: effect of administration schedule and prognostic factors*. J Clin Oncol, 1998. **16**(11): p. 3537-41.
18. Mini, E., et al., *Enhancement of the antitumor effects of 5-fluorouracil by folinic acid*. Pharmacol Ther, 1990. **47**(1): p. 1-19.
19. Thirion, P., et al., *Modulation of fluorouracil by leucovorin in patients with advanced colorectal cancer: an updated meta-analysis*. J Clin Oncol, 2004. **22**(18): p. 3766-75.
20. Buyse, M., et al., *Relation between tumour response to first-line chemotherapy and survival in advanced colorectal cancer: a meta-analysis*. Meta-Analysis Group in Cancer. Lancet, 2000. **356**(9227): p. 373-8.
21. Poon, M.A., et al., *Biochemical modulation of fluorouracil: evidence of significant improvement of survival and quality of life in patients with advanced colorectal carcinoma*. J Clin Oncol, 1989. **7**(10): p. 1407-18.
22. Jager, E., et al., *Weekly high-dose leucovorin versus low-dose leucovorin combined with fluorouracil in advanced colorectal cancer: results of a randomized multicenter trial*. Study Group for Palliative Treatment of Metastatic Colorectal Cancer Study Protocol I. J Clin Oncol, 1996. **14**(8): p. 2274-9.
23. Buroker, T.R., et al., *Randomized comparison of two schedules of fluorouracil and leucovorin in the treatment of advanced colorectal cancer*. J Clin Oncol, 1994. **12**(1): p. 14-20.
24. Wang, W.S., et al., *Randomized trial comparing weekly bolus 5-fluorouracil plus leucovorin versus monthly 5-day 5-fluorouracil plus leucovorin in metastatic colorectal cancer*. Hepatogastroenterology, 2000. **47**(36): p. 1599-603.
25. Saltz, L.B., *Another study of how to give fluorouracil?* J Clin Oncol, 2003. **21**(20): p. 3711-2.
26. de Gramont, A., et al., *Randomized trial comparing monthly low-dose leucovorin and fluorouracil bolus with bimonthly high-dose leucovorin and fluorouracil bolus plus continuous infusion for advanced colorectal cancer: a French intergroup study*. J Clin Oncol, 1997. **15**(2): p. 808-15.
27. Kopec, J.A., et al., *Quality of life in operable colon cancer patients receiving oral compared with intravenous chemotherapy: results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Trial C-06*. J Clin Oncol, 2007. **25**(4): p. 424-30.
28. Borner, M.M., et al., *Patient preference and pharmacokinetics of oral modulated UFT versus intravenous fluorouracil and leucovorin: a randomised crossover trial in advanced colorectal cancer*. Eur J Cancer, 2002. **38**(3): p. 349-58.
29. Schuller, J., et al., *Preferential activation of capecitabine in tumor following oral administration to colorectal cancer patients*. Cancer Chemother Pharmacol, 2000. **45**(4): p. 291-7.



30. Hoff, P.M., et al., *Comparison of oral capecitabine versus intravenous fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment in 605 patients with metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase III study*. J Clin Oncol, 2001. **19**(8): p. 2282-92.
31. Van Cutsem, E., et al., *Oral capecitabine compared with intravenous fluorouracil plus leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer: results of a large phase III study*. J Clin Oncol, 2001. **19**(21): p. 4097-106.
32. Kwakman, J.J.M., et al., *Randomized phase III trial of S-1 versus capecitabine in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer: SALTO study by the Dutch Colorectal Cancer Group*. Ann Oncol, 2017. **28**(6): p. 1288-1293.
33. Sulkes, A., S.E. Benner, and R.M. Canetta, *Uracil-ftorafur: an oral fluoropyrimidine active in colorectal cancer*. J Clin Oncol, 1998. **16**(10): p. 3461-75.
34. Carmichael, J., et al., *Randomized comparative study of tegafur/uracil and oral leucovorin versus parenteral fluorouracil and leucovorin in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer*. J Clin Oncol, 2002. **20**(17): p. 3617-27.
35. Douillard, J.Y., et al., *Multicenter phase III study of uracil/tegafur and oral leucovorin versus fluorouracil and leucovorin in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer*. J Clin Oncol, 2002. **20**(17): p. 3605-16.
36. Rougier, P., et al., *Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer*. Lancet, 1998. **352**(9138): p. 1407-12.
37. Cunningham, D., et al., *Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer*. Lancet, 1998. **352**(9138): p. 1413-8.
38. Kim, G.P., et al., *Phase III noninferiority trial comparing irinotecan with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin in patients with advanced colorectal carcinoma previously treated with fluorouracil: N9841*. J Clin Oncol, 2009. **27**(17): p. 2848-54.
39. Michael, M., et al., *The palliative benefit of irinotecan in 5-fluorouracil-refractory colorectal cancer: its prospective evaluation by a Multicenter Canadian Trial*. Clin Colorectal Cancer, 2002. **2**(2): p. 93-101.
40. Saltz, L.B., et al., *Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group*. N Engl J Med, 2000. **343**(13): p. 905-14.
41. Kohne, C.H., et al., *Phase III study of weekly high-dose infusional fluorouracil plus folinic acid with or without irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer: European Organisation for Research and Treatment of Cancer Gastrointestinal Group Study 40986*. J Clin Oncol, 2005. **23**(22): p. 4856-65.
42. Ratain, M.J., *Irinotecan dosing: does the CPT in CPT-11 stand for "Can't Predict Toxicity"?* J Clin Oncol, 2002. **20**(1): p. 7-8.
43. Mathijssen, R.H., et al., *Impact of body-size measures on irinotecan clearance: alternative dosing recommendations*. J Clin Oncol, 2002. **20**(1): p. 81-7.
44. Felici, A., J. Verweij, and A. Sparreboom, *Dosing strategies for anticancer drugs: the good, the bad and body-surface area*. Eur J Cancer, 2002. **38**(13): p. 1677-84.
45. Raymond, E., et al., *Dosage adjustment and pharmacokinetic profile of irinotecan in cancer patients with hepatic dysfunction*. J Clin Oncol, 2002. **20**(21): p. 4303-12.
46. Mathijssen, R.H., et al., *Irinotecan pathway genotype analysis to predict pharmacokinetics*. Clin Cancer Res, 2003. **9**(9): p. 3246-53.

47. Michael, M., et al., *Relationship of hepatic functional imaging to irinotecan pharmacokinetics and genetic parameters of drug elimination*. J Clin Oncol, 2006. **24**(26): p. 4228-35.
48. Innocenti, F., et al., *Comprehensive pharmacogenetic analysis of irinotecan neutropenia and pharmacokinetics*. J Clin Oncol, 2009. **27**(16): p. 2604-14.
49. Goodman, M.D., et al., *Chemotherapy for intraperitoneal use: a review of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy and early post-operative intraperitoneal chemotherapy*. J Gastrointest Oncol, 2016. **7**(1): p. 45-57.
50. deBraud, F., et al., *Synergistic activity of oxaliplatin and 5-fluorouracil in patients with metastatic colorectal cancer with progressive disease while on or after 5-fluorouracil*. Am J Clin Oncol, 1998. **21**(3): p. 279-83.
51. Yokoo, S., et al., *Significance of organic cation transporter 3 (SLC22A3) expression for the cytotoxic effect of oxaliplatin in colorectal cancer*. Drug Metab Dispos, 2008. **36**(11): p. 2299-306.
52. Song, I.S., et al., *Role of human copper transporter Ctr1 in the transport of platinum-based antitumor agents in cisplatin-sensitive and cisplatin-resistant cells*. Mol Cancer Ther, 2004. **3**(12): p. 1543-9.
53. Howell, S.B., et al., *Copper transporters and the cellular pharmacology of the platinum-containing cancer drugs*. Mol Pharmacol, 2010. **77**(6): p. 887-94.
54. Burger, H., et al., *Differential transport of platinum compounds by the human organic cation transporter hOCT2 (hSLC22A2)*. Br J Pharmacol, 2010. **159**(4): p. 898-908.
55. Armand, J.P., et al., *Oxaliplatin in colorectal cancer: an overview*. Semin Oncol, 2000. **27**(5 Suppl 10): p. 96-104.
56. Becouarn, Y., et al., *Phase II trial of oxaliplatin as first-line chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients*. Digestive Group of French Federation of Cancer Centers. J Clin Oncol, 1998. **16**(8): p. 2739-44.
57. Rothenberg, M.L., et al., *Superiority of oxaliplatin and fluorouracil-leucovorin compared with either therapy alone in patients with progressive colorectal cancer after irinotecan and fluorouracil-leucovorin: interim results of a phase III trial*. J Clin Oncol, 2003. **21**(11): p. 2059-69.
58. de Gramont, A., et al., *Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer*. J Clin Oncol, 2000. **18**(16): p. 2938-47.
59. Giacchetti, S., et al., *Phase III multicenter randomized trial of oxaliplatin added to chronomodulated fluorouracil-leucovorin as first-line treatment of metastatic colorectal cancer*. J Clin Oncol, 2000. **18**(1): p. 136-47.
60. Ducreux, M., et al., *Sequential versus combination chemotherapy for the treatment of advanced colorectal cancer (FFCD 2000-05): an open-label, randomised, phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2011. **12**(11): p. 1032-44.
61. Tournigand, C., et al., *FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study*. J Clin Oncol, 2004. **22**(2): p. 229-37.
62. Colucci, G., et al., *Phase III randomized trial of FOLFIRI versus FOLFOX4 in the treatment of advanced colorectal cancer: a multicenter study of the Gruppo Oncologico Dell'Italia Meridionale*. J Clin Oncol, 2005. **23**(22): p. 4866-75.

63. Yamazaki, K., et al., *Randomized phase III study of bevacizumab plus FOLFIRI and bevacizumab plus mFOLFOX6 as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (WJOG4407G)*. *Ann Oncol*, 2016. **27**(8): p. 1539-46.
64. Parikh, A.R., et al., *MAVERICC, a Randomized, Biomarker-stratified, Phase II Study of mFOLFOX6-Bevacizumab versus FOLFIRI-Bevacizumab as First-line Chemotherapy in Metastatic Colorectal Cancer*. *Clin Cancer Res*, 2019. **25**(10): p. 2988-2995.
65. Hochster, H.S., et al., *Safety and efficacy of oxaliplatin and fluoropyrimidine regimens with or without bevacizumab as first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results of the TREE Study*. *J Clin Oncol*, 2008. **26**(21): p. 3523-9.
66. Diaz-Rubio, E., et al., *Phase III study of capecitabine plus oxaliplatin compared with continuous-infusion fluorouracil plus oxaliplatin as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: final report of the Spanish Cooperative Group for the Treatment of Digestive Tumors Trial*. *J Clin Oncol*, 2007. **25**(27): p. 4224-30.
67. Comella, P., et al., *Capecitabine plus oxaliplatin for the first-line treatment of elderly patients with metastatic colorectal carcinoma: final results of the Southern Italy Cooperative Oncology Group Trial 0108*. *Cancer*, 2005. **104**(2): p. 282-9.
68. Scheithauer, W., et al., *Randomized multicenter phase II trial of two different schedules of capecitabine plus oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer*. *J Clin Oncol*, 2003. **21**(7): p. 1307-12.
69. Feliu, J., et al., *XELOX (capecitabine plus oxaliplatin) as first-line treatment for elderly patients over 70 years of age with advanced colorectal cancer*. *Br J Cancer*, 2006. **94**(7): p. 969-75.
70. Cassidy, J., et al., *XELOX (capecitabine plus oxaliplatin): active first-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer*. *J Clin Oncol*, 2004. **22**(11): p. 2084-91.
71. Zeuli, M., et al., *Phase II study of capecitabine and oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer*. *Ann Oncol*, 2003. **14**(9): p. 1378-82.
72. Shields, A.F., et al., *Treatment of advanced colorectal carcinoma with oxaliplatin and capecitabine: a phase II trial*. *Cancer*, 2004. **100**(3): p. 531-7.
73. Porschen, R., et al., *Phase III study of capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil and leucovorin plus oxaliplatin in metastatic colorectal cancer: a final report of the AIO Colorectal Study Group*. *J Clin Oncol*, 2007. **25**(27): p. 4217-23.
74. Guo, Y., et al., *XELOX vs. FOLFOX in metastatic colorectal cancer: An updated meta-analysis*. *Cancer Invest*, 2016. **34**(2): p. 94-104.
75. Goldberg, R.M., et al., *A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer*. *J Clin Oncol*, 2004. **22**(1): p. 23-30.
76. Hochster, H., et al., *Oxaliplatin with weekly bolus fluorouracil and low-dose leucovorin as first-line therapy for patients with colorectal cancer*. *J Clin Oncol*, 2003. **21**(14): p. 2703-7.
77. Argyriou, A.A., et al., *Clinical pattern and associations of oxaliplatin acute neurotoxicity: a prospective study in 170 patients with colorectal cancer*. *Cancer*, 2013. **119**(2): p. 438-44.
78. Pachman, D.R., et al., *Clinical Course of Oxaliplatin-Induced Neuropathy: Results From the Randomized Phase III Trial N08CB (Alliance)*. *J Clin Oncol*, 2015. **33**(30): p. 3416-22.

79. Overman, M.J., et al., *Oxaliplatin-mediated increase in spleen size as a biomarker for the development of hepatic sinusoidal injury*. J Clin Oncol, 2010. **28**(15): p. 2549-55.
80. Suenaga, M., et al., *Management of allergic reactions to oxaliplatin in colorectal cancer patients*. J Support Oncol, 2008. **6**(8): p. 373-8.
81. Kim, K.J., et al., *Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo*. Nature, 1993. **362**(6423): p. 841-4.
82. Jain, R.K., *Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: a new paradigm for combination therapy*. Nat Med, 2001. **7**(9): p. 987-9.
83. Hurwitz, H.I., et al., *Efficacy and safety of bevacizumab in metastatic colorectal cancer: pooled analysis from seven randomized controlled trials*. Oncologist, 2013. **18**(9): p. 1004-12.
84. Saltz, L.B., et al., *Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study*. J Clin Oncol, 2008. **26**(12): p. 2013-9.
85. Ranpura, V., S. Hapani, and S. Wu, *Treatment-related mortality with bevacizumab in cancer patients: a meta-analysis*. JAMA, 2011. **305**(5): p. 487-94.
86. Yeh, J., et al., *Clinical utility of routine proteinuria evaluation in treatment decisions of patients receiving bevacizumab for metastatic solid tumors*. Ann Pharmacother, 2010. **44**(6): p. 1010-5.
87. Taberero, J., et al., *Ramucirumab versus placebo in combination with second-line FOLFIRI in patients with metastatic colorectal carcinoma that progressed during or after first-line therapy with bevacizumab, oxaliplatin, and a fluoropyrimidine (RAISE): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 study*. Lancet Oncol, 2015. **16**(5): p. 499-508.
88. Van Cutsem, E., et al., *Addition of aflibercept to fluorouracil, leucovorin, and irinotecan improves survival in a phase III randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with an oxaliplatin-based regimen*. J Clin Oncol, 2012. **30**(28): p. 3499-506.
89. el-Hariry, I., M. Pignatelli, and N. Lemoine, *Fibroblast growth factor 1 and fibroblast growth factor 2 immunoreactivity in gastrointestinal tumours*. J Pathol, 1997. **181**(1): p. 39-45.
90. Kawamoto, K., et al., *Possible paracrine mechanism of insulin-like growth factor-2 in the development of liver metastases from colorectal carcinoma*. Cancer, 1999. **85**(1): p. 18-25.
91. Messa, C., et al., *EGF, TGF-alpha, and EGF-R in human colorectal adenocarcinoma*. Acta Oncol, 1998. **37**(3): p. 285-9.
92. Goldstein, N.S. and M. Armin, *Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV colon adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system*. Cancer, 2001. **92**(5): p. 1331-46.
93. Allegra, C.J., et al., *Extended RAS Gene Mutation Testing in Metastatic Colorectal Carcinoma to Predict Response to Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody Therapy: American Society of Clinical Oncology Provisional Clinical Opinion Update 2015*. J Clin Oncol, 2016. **34**(2): p. 179-85.
94. Price, T.J., et al., *Panitumumab versus cetuximab in patients with chemotherapy-refractory wild-type KRAS exon 2 metastatic colorectal cancer (ASPECCT): a*

- randomised, multicentre, open-label, non-inferiority phase 3 study.* Lancet Oncol, 2014. **15**(6): p. 569-79.
95. Andre, T., et al., *Panitumumab combined with irinotecan for patients with KRAS wild-type metastatic colorectal cancer refractory to standard chemotherapy: a GERCOR efficacy, tolerance, and translational molecular study.* Ann Oncol, 2013. **24**(2): p. 412-9.
  96. Berlin, J., et al., *Panitumumab with irinotecan/leucovorin/5-fluorouracil for first-line treatment of metastatic colorectal cancer.* Clin Colorectal Cancer, 2007. **6**(6): p. 427-32.
  97. Carrato, A., et al., *First-line panitumumab plus FOLFOX4 or FOLFIRI in colorectal cancer with multiple or unresectable liver metastases: A randomised, phase II trial (PLANET-TTD).* Eur J Cancer, 2017. **81**: p. 191-202.
  98. Cohn, A.L., et al., *An open-label, single-arm, phase 2 trial of panitumumab plus FOLFIRI as second-line therapy in patients with metastatic colorectal cancer.* Clin Colorectal Cancer, 2011. **10**(3): p. 171-7.
  99. Cunningham, D., et al., *Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer.* N Engl J Med, 2004. **351**(4): p. 337-45.
  100. Kohne, C.H., et al., *First-line panitumumab plus irinotecan/5-fluorouracil/leucovorin treatment in patients with metastatic colorectal cancer.* J Cancer Res Clin Oncol, 2012. **138**(1): p. 65-72.
  101. Peeters, M., et al., *Final results from a randomized phase 3 study of FOLFIRI {+/-} panitumumab for second-line treatment of metastatic colorectal cancer.* Ann Oncol, 2014. **25**(1): p. 107-16.
  102. Seymour, M.T., et al., *Panitumumab and irinotecan versus irinotecan alone for patients with KRAS wild-type, fluorouracil-resistant advanced colorectal cancer (PICCOLO): a prospectively stratified randomised trial.* Lancet Oncol, 2013. **14**(8): p. 749-59.
  103. Sobrero, A.F., et al., *EPIC: phase III trial of cetuximab plus irinotecan after fluoropyrimidine and oxaliplatin failure in patients with metastatic colorectal cancer.* J Clin Oncol, 2008. **26**(14): p. 2311-9.
  104. Douillard, J.Y., et al., *Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study.* J Clin Oncol, 2010. **28**(31): p. 4697-705.
  105. Bokemeyer, C., et al., *Efficacy according to biomarker status of cetuximab plus FOLFOX-4 as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the OPUS study.* Ann Oncol, 2011. **22**(7): p. 1535-46.
  106. Bokemeyer, C., et al., *Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer.* J Clin Oncol, 2009. **27**(5): p. 663-71.
  107. Tabernero, J., et al., *Phase II trial of cetuximab in combination with fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer.* J Clin Oncol, 2007. **25**(33): p. 5225-32.

108. Folprecht, G., et al., *Tumour response and secondary resectability of colorectal liver metastases following neoadjuvant chemotherapy with cetuximab: the CELIM randomised phase 2 trial*. *Lancet Oncol*, 2010. **11**(1): p. 38-47.
109. Primrose, J., et al., *Systemic chemotherapy with or without cetuximab in patients with resectable colorectal liver metastasis: the New EPOC randomised controlled trial*. *Lancet Oncol*, 2014. **15**(6): p. 601-11.
110. Grothey, A., et al., *Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial*. *Lancet*, 2013. **381**(9863): p. 303-12.
111. Mayer, R.J., et al., *Randomized trial of TAS-102 for refractory metastatic colorectal cancer*. *N Engl J Med*, 2015. **372**(20): p. 1909-19.
112. Xu, J., et al., *Results of a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase III Trial of Trifluridine/Tipiracil (TAS-102) Monotherapy in Asian Patients With Previously Treated Metastatic Colorectal Cancer: The TERRA Study*. *J Clin Oncol*, 2018. **36**(4): p. 350-358.
113. Le, D.T., et al., *PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency*. *N Engl J Med*, 2015. **372**(26): p. 2509-20.
114. Franko, J., et al., *Treatment of colorectal peritoneal carcinomatosis with systemic chemotherapy: a pooled analysis of north central cancer treatment group phase III trials N9741 and N9841*. *J Clin Oncol*, 2012. **30**(3): p. 263-7.
115. Franko, J., et al., *Prognosis of patients with peritoneal metastatic colorectal cancer given systemic therapy: an analysis of individual patient data from prospective randomised trials from the Analysis and Research in Cancers of the Digestive System (ARCAD) database*. *Lancet Oncol*, 2016. **17**(12): p. 1709-1719.
116. Klaver, Y.L., et al., *Outcomes of colorectal cancer patients with peritoneal carcinomatosis treated with chemotherapy with and without targeted therapy*. *Eur J Surg Oncol*, 2012. **38**(7): p. 617-23.
117. Cunliffe, W.J. and P.H. Sugarbaker, *Gastrointestinal malignancy: rationale for adjuvant therapy using early postoperative intraperitoneal chemotherapy*. *Br J Surg*, 1989. **76**(10): p. 1082-90.
118. Deraco, M., et al., *Consensus statement on peritoneal mesothelioma*. *J Surg Oncol*, 2008. **98**(4): p. 268-72.
119. Sugarbaker, P.H., *Getting chemotherapy into the cancerous tissue*. *Ann Surg Oncol*, 2008. **15**(11): p. 3320; author reply 3321.
120. Yan, T.D., et al., *Prognostic indicators for patients undergoing cytoreductive surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy for diffuse malignant peritoneal mesothelioma*. *Ann Surg Oncol*, 2007. **14**(1): p. 41-9.
121. Elias, D., et al., *Complete cytoreductive surgery plus intraperitoneal chemohyperthermia with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin*. *J Clin Oncol*, 2009. **27**(5): p. 681-5.
122. Cashin, P.H., et al., *Cytoreductive surgery and intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy for colorectal peritoneal metastases: A randomised trial*. *Eur J Cancer*, 2016. **53**: p. 155-62.
123. Elias, D., et al., *Peritoneal colorectal carcinomatosis treated with surgery and perioperative intraperitoneal chemotherapy: retrospective analysis of 523 patients from a multicentric French study*. *J Clin Oncol*, 2010. **28**(1): p. 63-8.

124. Gervais, M.K., et al., *Cytoreductive surgery plus hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis arising from colorectal cancer*. J Surg Oncol, 2013. **108**(7): p. 438-43.
125. Cao, C.Q., et al., *Comparison of optimally resected hepatectomy and peritonectomy patients with colorectal cancer metastasis*. J Surg Oncol, 2009. **100**(7): p. 529-33.
126. Nigro, N.D., V.K. Vaitkevicius, and B. Considine, Jr., *Combined therapy for cancer of the anal canal: a preliminary report*. 1974. Dis Colon Rectum, 1993. **36**(7): p. 709-11.
127. Orwoll, E.S., P.J. Kiessling, and J.R. Patterson, *Interstitial pneumonia from mitomycin*. Ann Intern Med, 1978. **89**(3): p. 352-5.
128. Folman, R.S., *Experience with mitomycin in the treatment of non-small cell lung cancer*. Oncology, 1993. **50 Suppl 1**: p. 24-30.
129. Verweij, J. and H.M. Pinedo, *Mitomycin C: mechanism of action, usefulness and limitations*. Anticancer Drugs, 1990. **1**(1): p. 5-13.
130. Kemmel, V., et al., *Mitomycin C Pharmacokinetics as Predictor of Severe Neutropenia in Hyperthermic Intraperitoneal Therapy*. Ann Surg Oncol, 2015. **22 Suppl 3**: p. S873-9.
131. Glockzin, G., et al., *Treatment-related morbidity and toxicity of CRS and oxaliplatin-based HIPEC compared to a mitomycin and doxorubicin-based HIPEC protocol in patients with peritoneal carcinomatosis: a matched-pair analysis*. J Surg Oncol, 2013. **107**(6): p. 574-8.
132. Hompes, D., et al., *The use of Oxaliplatin or Mitomycin C in HIPEC treatment for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a comparative study*. J Surg Oncol, 2014. **109**(6): p. 527-32.
133. Murono, K., et al., *Regimens of Intraperitoneal Chemotherapy for Peritoneal Carcinomatosis from Colorectal Cancer*. Anticancer Res, 2018. **38**(1): p. 15-22.
134. Verwaal, V.J., et al., *Randomized trial of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy and palliative surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer*. J Clin Oncol, 2003. **21**(20): p. 3737-43.
135. Verwaal, V.J., et al., *8-year follow-up of randomized trial: cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer*. Ann Surg Oncol, 2008. **15**(9): p. 2426-32.
136. Shen, P., et al., *Cytoreductive surgery and intraperitoneal hyperthermic chemotherapy with mitomycin C for peritoneal carcinomatosis from nonappendiceal colorectal carcinoma*. Ann Surg Oncol, 2004. **11**(2): p. 178-86.
137. Prada-Villaverde, A., et al., *The American Society of Peritoneal Surface Malignancies evaluation of HIPEC with Mitomycin C versus Oxaliplatin in 539 patients with colon cancer undergoing a complete cytoreductive surgery*. J Surg Oncol, 2014. **110**(7): p. 779-85.
138. Levine, E.A., et al., *A Multicenter Randomized Trial to Evaluate Hematologic Toxicities after Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy with Oxaliplatin or Mitomycin in Patients with Appendiceal Tumors*. J Am Coll Surg, 2018. **226**(4): p. 434-443.

139. van Eden, W.J., et al., *Safety of intraperitoneal Mitomycin C versus intraperitoneal oxaliplatin in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer undergoing cytoreductive surgery and HIPEC*. Eur J Surg Oncol, 2018. **44**(2): p. 220-227.
140. Votanopoulos, K., et al., *A comparison of hematologic toxicity profiles after heated intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin and mitomycin C*. J Surg Res, 2013. **179**(1): p. e133-9.
141. Rietbroek, R.C., et al., *Hyperthermia enhances the cytotoxicity and platinum-DNA adduct formation of lobaplatin and oxaliplatin in cultured SW 1573 cells*. J Cancer Res Clin Oncol, 1997. **123**(1): p. 6-12.
142. Piche, N., et al., *Rationale for heating oxaliplatin for the intraperitoneal treatment of peritoneal carcinomatosis: a study of the effect of heat on intraperitoneal oxaliplatin using a murine model*. Ann Surg, 2011. **254**(1): p. 138-44.
143. Elias, D., et al., *Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin after complete resection of peritoneal carcinomatosis: pharmacokinetics and tissue distribution*. Ann Oncol, 2002. **13**(2): p. 267-72.
144. Quenet, F., et al., *Results of two bi-institutional prospective studies using intraperitoneal oxaliplatin with or without irinotecan during HIPEC after cytoreductive surgery for colorectal carcinomatosis*. Ann Surg, 2011. **254**(2): p. 294-301.
145. Hompes, D., et al., *The treatment of peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer with complete cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal peroperative chemotherapy (HIPEC) with oxaliplatin: a Belgian multicentre prospective phase II clinical study*. Ann Surg Oncol, 2012. **19**(7): p. 2186-94.
146. Giacchetti, S., et al., *Long-term survival of patients with unresectable colorectal cancer liver metastases following infusional chemotherapy with 5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin and surgery*. Ann Oncol, 1999. **10**(6): p. 663-9.
147. Badrudin, D., et al., *Pharmacokinetics and the effect of heat on intraperitoneal pemetrexed using a murine model*. Surg Oncol, 2016. **25**(4): p. 435-440.
148. Badrudin D, Dubé P, Sideris L. *J Rare Dis Res Treat*. (2016) 2(1): 23-26.
149. Bendavid, Y., F.A. Leblond, and P. Dube, *A study of the effect of temperature on the pharmacokinetic profile of raltitrexed administered by intraperitoneal route in the rat*. Med Sci Monit, 2005. **11**(1): p. BR1-5.
150. Feng, M., et al., *In vivo imaging of human malignant mesothelioma grown orthotopically in the peritoneal cavity of nude mice*. J Cancer, 2011. **2**: p. 123-31.
151. Los, G., et al., *The use of oxaliplatin versus cisplatin in intraperitoneal chemotherapy in cancers restricted to the peritoneal cavity in the rat*. Cancer Lett, 1990. **51**(2): p. 109-17.
152. Pestieau, S.R., O.A. Stuart, and P.H. Sugarbaker, *Multi-targeted antifolate (MTA): pharmacokinetics of intraperitoneal administration in a rat model*. Eur J Surg Oncol, 2000. **26**(7): p. 696-700.
153. Pi, C., et al., *Development of a HPLC method to determine 5-fluorouracil in plasma: application in pharmacokinetics and steady-state concentration monitoring*. Int J Clin Pharmacol Ther, 2014. **52**(12): p. 1093-101.
154. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures*. 2012. . Available from: <http://www.cancer.org>.



155. Koopman, M., et al., *Sequential versus combination chemotherapy with capecitabine, irinotecan, and oxaliplatin in advanced colorectal cancer (CAIRO): a phase III randomised controlled trial*. Lancet, 2007. **370**(9582): p. 135-42.
156. Tol, J., et al., *A randomised phase III study on capecitabine, oxaliplatin and bevacizumab with or without cetuximab in first-line advanced colorectal cancer, the CAIRO2 study of the Dutch Colorectal Cancer Group (DCCG). An interim analysis of toxicity*. Ann Oncol, 2008. **19**(4): p. 734-8.
157. Esquivel, J., et al., *The American Society of Peritoneal Surface Malignancies (ASPSM) Multiinstitution Evaluation of the Peritoneal Surface Disease Severity Score (PSDSS) in 1,013 Patients with Colorectal Cancer with Peritoneal Carcinomatosis*. Ann Surg Oncol, 2014. **21**(13): p. 4195-201.
158. Chua, T.C., et al., *Summary of current therapeutic options for peritoneal metastases from colorectal cancer*. J Surg Oncol, 2013. **107**(6): p. 566-73.
159. Glehen, O., et al., *Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a multi-institutional study*. J Clin Oncol, 2004. **22**(16): p. 3284-92.
160. da Silva, R.G. and P.H. Sugarbaker, *Analysis of prognostic factors in seventy patients having a complete cytoreduction plus perioperative intraperitoneal chemotherapy for carcinomatosis from colorectal cancer*. J Am Coll Surg, 2006. **203**(6): p. 878-86.
161. Shen, P., et al., *Peritoneal surface disease from colorectal cancer: comparison with the hepatic metastases surgical paradigm in optimally resected patients*. Ann Surg Oncol, 2008. **15**(12): p. 3422-32.
162. Chua, T.C., et al., *Significance of lymph node metastasis in patients with colorectal cancer peritoneal carcinomatosis*. World J Surg, 2009. **33**(7): p. 1488-94.
163. Franko, J., et al., *Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion versus systemic chemotherapy alone for colorectal peritoneal carcinomatosis*. Cancer, 2010. **116**(16): p. 3756-62.
164. Elias, D., et al., *Results of systematic second-look surgery plus HIPEC in asymptomatic patients presenting a high risk of developing colorectal peritoneal carcinomatosis*. Ann Surg, 2011. **254**(2): p. 289-93.
165. Ung, L., T.C. Chua, and L.M. David, *Peritoneal metastases of lower gastrointestinal tract origin: a comparative study of patient outcomes following cytoreduction and intraperitoneal chemotherapy*. J Cancer Res Clin Oncol, 2013. **139**(11): p. 1899-1908.
166. Sugarbaker, P.H., *Surgical treatment of peritoneal carcinomatosis: 1988 Du Pont lecture*. Can J Surg, 1989. **32**(3): p. 164-70.
167. Pocard, M. and V. Boige, *[Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for peritoneal colorectal carcinomatosis: a newly validated standard whose contribution remains to be assessed]*. Bull Cancer, 2005. **92**(2): p. 151-4.
168. Chua, T.C., et al., *Early- and long-term outcome data of patients with pseudomyxoma peritonei from appendiceal origin treated by a strategy of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy*. J Clin Oncol, 2012. **30**(20): p. 2449-56.
169. Schellinx, M.E., M.F. von Meyenfeldt, and P.H. Sugarbaker, *Peritoneal carcinomatosis from adenocarcinoma of the colon*. Cancer Treat Res, 1996. **81**: p. 247-60.
170. Sugarbaker, P.H., et al., *Peritoneal carcinomatosis from adenocarcinoma of the colon*. World J Surg, 1996. **20**(5): p. 585-91; discussion 592.

171. Elias, D., et al., *Peritoneal carcinomatosis of colorectal origin*. Gastroenterol Clin Biol, 2006. **30**(10): p. 1200-4.
172. Macri, A., et al., *Peritoneal carcinomatosis of colorectal origin*. World J Gastrointest Oncol, 2010. **2**(2): p. 98-101.
173. Elias, D. and D. Goere, *Peritoneal carcinomatosis of colorectal origin: recent advances and future evolution toward a curative treatment*. Recent Results Cancer Res, 2007. **169**: p. 115-22.
174. Dube, P., P. Lasser, and D. Elias, [*Treatment of peritoneal carcinosis of colorectal origin*]. J Chir (Paris), 1997. **134**(5-6): p. 233-6.
175. Sayag-Beaujard, A.C., et al., *Treatment of peritoneal carcinomatosis in patients with digestive cancers with combination of intraperitoneal hyperthermia and mitomycin C*. Bull Cancer, 2004. **91**(5): p. E113-32.
176. Elias, D., et al., *Treatment of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: impact of complete cytoreductive surgery and difficulties in conducting randomized trials*. Ann Surg Oncol, 2004. **11**(5): p. 518-21.
177. Sugarbaker, P.H., *Treatment of peritoneal carcinomatosis from colon or appendiceal cancer with induction intraperitoneal chemotherapy*. Cancer Treat Res, 1996. **82**: p. 317-25.
178. Elias, D., et al., *Treatment of peritoneal carcinomatosis by intraperitoneal chemo-hyperthermia: reliable and unreliable concepts*. Hepatogastroenterology, 1994. **41**(3): p. 207-13.
179. Elias, D., et al., *Treatment of liver metastases with moderate peritoneal carcinomatosis by hepatectomy and cytoreductive surgery followed by immediate post-operative intraperitoneal chemotherapy: feasibility and preliminary results*. Hepatogastroenterology, 1999. **46**(25): p. 360-3.
180. Elias, D.M. and M. Pocard, *Treatment and prevention of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer*. Surg Oncol Clin N Am, 2003. **12**(3): p. 543-59.
181. Glehen, O., et al., *Toward curative treatment of peritoneal carcinomatosis from nonovarian origin by cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy: a multi-institutional study of 1,290 patients*. Cancer, 2010. **116**(24): p. 5608-18.
182. Sugarbaker, P.H., D. Chang, and P. Koslowe, *Prognostic features for peritoneal carcinomatosis in colorectal and appendiceal cancer patients when treated by cytoreductive surgery and intraperitoneal chemotherapy*. Cancer Treat Res, 1996. **81**: p. 89-104.
183. Dube, P., et al., *Guidelines on the use of cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in patients with peritoneal surface malignancy arising from colorectal or appendiceal neoplasms*. Curr Oncol, 2015. **22**(2): p. e100-12.
184. Malgras, B., et al., *Impact of Combination Chemotherapy in Peritoneal Mesothelioma Hyperthermic Intraperitoneal Chemotherapy (HIPEC): The RENAPE Study*. Ann Surg Oncol, 2018. **25**(11): p. 3271-3279.
185. Klaver, C.E., et al., *Adjuvant hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) in patients with colon cancer at high risk of peritoneal carcinomatosis; the COLOPEC randomized multicentre trial*. BMC Cancer, 2015. **15**: p. 428.

186. Esquivel, J., *Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for colorectal cancer: survival outcomes and patient selection*. J Gastrointest Oncol, 2016. **7**(1): p. 72-8.
187. Bleiberg, H. and A. de Gramont, *Oxaliplatin plus 5-fluorouracil: clinical experience in patients with advanced colorectal cancer*. Semin Oncol, 1998. **25**(2 Suppl 5): p. 32-9.
188. Schmoll, H.J., et al., *Effect of adjuvant capecitabine or fluorouracil, with or without oxaliplatin, on survival outcomes in stage III colon cancer and the effect of oxaliplatin on post-relapse survival: a pooled analysis of individual patient data from four randomised controlled trials*. Lancet Oncol, 2014. **15**(13): p. 1481-92.
189. Afzal, S., et al., *Oxidative damage to guanine nucleosides following combination chemotherapy with 5-fluorouracil and oxaliplatin*. Cancer Chemother Pharmacol, 2012. **69**(2): p. 301-7.
190. Failli, A., et al., *Evaluation of in vitro cytotoxicity of oxaliplatin and 5-fluorouracil in human colon cancer cell lines: combination versus sequential exposure*. J Biol Regul Homeost Agents, 2011. **25**(4): p. 575-88.
191. Kiyonari, S., et al., *The 1,2-Diaminocyclohexane Carrier Ligand in Oxaliplatin Induces p53-Dependent Transcriptional Repression of Factors Involved in Thymidylate Biosynthesis*. Mol Cancer Ther, 2015. **14**(10): p. 2332-42.
192. Floyd, J.D., et al., *Cardiotoxicity of cancer therapy*. J Clin Oncol, 2005. **23**(30): p. 7685-96.
193. Herrmann, J., et al., *Vascular Toxicities of Cancer Therapies: The Old and the New--An Evolving Avenue*. Circulation, 2016. **133**(13): p. 1272-89.
194. Polk, A., et al., *A systematic review of the pathophysiology of 5-fluorouracil-induced cardiotoxicity*. BMC Pharmacol Toxicol, 2014. **15**: p. 47.
195. Sorrentino, M.F., et al., *5-fluorouracil induced cardiotoxicity: review of the literature*. Cardiol J, 2012. **19**(5): p. 453-8.
196. Cao, C., et al., *A systematic review and meta-analysis of cytoreductive surgery with perioperative intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin*. Ann Surg Oncol, 2009. **16**(8): p. 2152-65.

## **Annexe: Article du mémoire**

### **RATIONALE FOR THE ADMINISTRATION OF SYSTEMIC 5-FU IN COMBINATION WITH HEATED INTRAPERITONAL OXALIPLATIN**

Badrudin D, Sideris L, Leblond FA, Pichette V, Cloutier AS, Drolet P, Dubé P

Maisonneuve-Rosemont Research Center, Maisonneuve-Rosemont Hospital, Université de  
Montréal, Montreal QC, Canada

#### **Corresponding author:**

Pierre Dubé, MD

Hôpital Maisonneuve-Rosemont

5415 boul. de l'Assomption

Montréal QC

Canada H1T 2M4

F (514) 252-3430

T (514) 252-3822

[pdube1234@me.com](mailto:pdube1234@me.com)

**KEYWORDS**

HIPEC; EXPERIMENTAL STUDY; PHARMACOKINETICS

## **ABSTRACT**

**Background:** Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) with oxaliplatin (OX) is the standard of care for selected patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. Because 5-FU is mandatory to improve efficacy of OX when used by systemic route, several teams now empirically combine intravenous (IV) 5-FU with HIPEC OX, but this practice has yet to be supported by preclinical data. Using a murine model, we studied the impact of IV 5-FU on peritoneal absorption of HIPEC OX.

**Methods:** Under general anesthesia, 24 Sprague-Dawley rats were submitted to 4 different doses of IV 5-FU (0, 100, 400 and 800 mg/m<sup>2</sup>) and a fixed dose of HIPEC OX (460 mg/m<sup>2</sup>) perfused at 40°C during 25 minutes. At 25 minutes, samples in different compartments were harvested (peritoneum, portal vein and systemic blood) and the concentrations of 5-FU and OX were measured by high performance liquid chromatography.

**Results:** Peritoneal absorption of OX was significantly higher (17.0, 20.1, 34.9 and 38.1 nmol/g,  $p < 0.0001$ ) with increasing doses of 5-FU (0, 100, 400 and 800 mg/m<sup>2</sup>, respectively). Peritoneal absorption of OX reached a plateau between 400 and 800 mg/m<sup>2</sup> of IV 5-FU.

**Conclusion:** IV 5-FU enhances peritoneal absorption of HIPEC OX. The most efficient dose of IV 5-FU to be used in combination with HIPEC OX seems to be 400 mg/m<sup>2</sup>.

## INTRODUCTION

Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) with oxaliplatin (OX) is the standard of care in selected patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal origin[121, 124, 144, 145]. Intravenous (IV) administration of oxaliplatin and 5-Fluorouracile (5-FU) has shown remarkable success in the treatment of colorectal cancer (CRC). As 5-FU is now mandatory to improve efficacy of OX when administered by systemic route[4, 59, 146], this has led several surgical teams to empirically combine intravenous 5-FU with HIPEC OX. However, the most favorable modalities of this combination remain undefined and such knowledge could be beneficial for subsequent clinical studies. Currently, oxaliplatin is known to be effective when used in the context of HIPEC, and in combination with 5-FU for the systemic treatment of CRC. Yet, it is unknown if systemic 5-FU improves HIPEC OX efficacy.

Indirect support for this approach could be achieved by preclinical work aimed at studying the impact of IV 5-FU on the absorption of intraperitoneal (IP) oxaliplatin. The demonstration that systemic 5-FU enhances tissue concentration of active oxaliplatin in the peritoneum would support the use of this combination during HIPEC.

The main objective of this study was to evaluate the effect of IV administered 5-FU on the peritoneal absorption of HIPEC OX using a murine model.

## MATERIAL AND METHODS

### Study design

After approval by our Animal Protection Committee was obtained, twenty-four male Sprague-Dawley rats weighing on average 320 g (range: 270 - 410 g) with a mean body surface of 0.046 m<sup>2</sup> (range: 0.044 - 0.057 m<sup>2</sup>) were used. Each rat was submitted to one dose of IV 5-FU combined to HIPEC OX, 460 mg/m<sup>2</sup> in dextrose 5% at a set perfusion temperature of 40 °C for 25 minutes. As shown in Table 1, four groups of rats were submitted to different experimental conditions.

Doses of IV 5-FU were 0, 100, 400 and 800 mg/m<sup>2</sup>. Based on the IV 5-FU protocol described by de Gramont *et al* [26], we selected our initial dosage of bolus 5-FU at 400 mg/m<sup>2</sup>. We then selected dosages that ranged from 0 to 800 mg/m<sup>2</sup> (twice the initial dosage) to enhance detection of an eventual effect of IV 5-FU on peritoneal absorption of IP oxaliplatin.

Regarding the temperature of IP perfusion, experimental studies have shown enhancement of oxaliplatin cytotoxic effect when administered in hyperthermia[141]. Most groups using OX in the context of HIPEC currently do so at a perfusion temperature of 43 °C[196]. We chose not to exceed 40 °C as we previously demonstrated that perfusion temperatures exceeding 43 °C in a murine model were associated with mortality rates above 50%[142]. IP oxaliplatin was thus administered at a lower temperature to reduce the risk of premature animal death.



In order to standardize the experiment, IV 5-FU administration was followed by a 30 minutes hyperthermic IP perfusion before injecting oxaliplatin as time to reach the desired perfusion temperature after pump initiation was variable between the subjects.

### **Surgical procedure and tissue harvesting**

All rats were put under general anesthesia using isoflurane inhalation in a standardized fashion. Two multi-perforated catheters (16 French Levine tubes with extremities connected to standard intravenous lines with injection ports) were then placed in the abdominal cavity via two 5 mm incisions and fixed with watertight purse-string sutures.

To monitor inflow and outflow temperatures, two thermistors probes were fixed inside the catheters and connected to a digital thermometer. Prior to insertion, all circuits were filled with dextrose 5% solution in order to eliminate air from the circuit. One catheter tip was placed in the right sub costal region (inflow) and the other in the left iliac fossa (outflow) to maximize peritoneal exposure to the perfusate. The tips of catheters were coated with gauze to prevent occlusion by intra abdominal contents. To prevent heat loss, rats were placed on a heating mattress kept at 37°C (**Figure 1**).

The abdominal cavity was then filled with 15 cc of isothermic dextrose 5% solution and closed circuit fluid circulation was then initiated with a peristaltic pump. The perfusate was heated by having a standardized length of tubing resting in a thermostatic bath. Pump flow was adjusted to enable the total volume of the circuit (tubing 53 cc + peritoneal cavity 15 cc + oxaliplatin 20-25 cc) to circulate 7 times during the 25-minute perfusion. Once the intra

abdominal temperature reached 40°C, intravenous 5-FU was administered through a vein in the animal's tail (t0). From this point, the perfusion was maintained for 30 minutes (t30) under continuous temperature surveillance, which was displayed with one tenth of °C precision on a digital thermometer. At t30, oxaliplatin was administered via an injection port near the inflow catheter. The perfusion was further continued for 25 minutes. Rhythmic massage of the abdomen was applied to favor a uniform distribution of heat and perfusate. At t55, the peristaltic pump was stopped and the intraabdominal fluid was evacuated through the injection port. A midline laparotomy was performed and the peritoneal surfaces were rinsed with 20 cc of dextrose 5% solution. One ml of blood was harvested from both the portal vein (portal blood) and inferior vena cava (systemic blood). We then harvested 1 cm<sup>2</sup> of parietal peritoneum in a standardized fashion. These tissue samples were rapidly frozen in liquid nitrogen. The blood samples were centrifuged for 5 minutes allowing separation of the plasma and cellular elements which were then frozen separately in liquid nitrogen. All samples were then kept frozen at -80°C. Harvesting of the different samples was completed within 25 minutes after which the animals were sacrificed by cardiectomy.

## **Sample preparation and analysis**

### Oxaliplatin assay

Oxaliplatin concentration was assayed on freshly thawed peritoneum biopsies using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Gold System from Beckman) following the previously published method[142]. The column used was a Synergi4 $\mu$  RP Hydro-80A 250 x 4, 6 mm (Phenomenex, Torrance, CA). The mobile phase was a mixture of 5mM Heptane

sulfonic acid, pH 3.4 and 90% Methanol that was run at 1.0 ml/min according to a pre-optimized gradient. OX content was detected at 255 nm. A standard curve (ranging from 2,5 to 100  $\mu$ M) was prepared with pure OX (Sanofi, Laval, Qc, Canada) mixed with 10% rat serum and treated and assayed as unknown serum samples.

OX was assayed on peritoneum biopsies collected immediately after the end of the experiment and snap frozen in liquid nitrogen. Tissue pieces were kept frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  until the beginning of the extraction. All biopsies were rapidly weighted and then homogenized in 0.9% NaCl respecting a ratio of 20 grams of tissue per 100 ml. Homogenates were further sonicated then clarified by centrifugation at 2800 G for 10 minutes at  $4^{\circ}\text{C}$ . The supernatants were successively filtrated on a Ultrafree CL filtration unit (cut-off 0.22  $\mu\text{m}$ ) and an Amicon Ultra-4 filtration unit (cut-off 30 kDa). Both were centrifuged at 2800 G at  $4^{\circ}\text{C}$  for 20 minutes. The final filtrates were kept on ice until injection on HPLC.

Prior to be injected on the HPLC column, all plasma and tissue samples were mixed with assay buffer to get final concentration of 50 mM  $\text{NaHCO}_3$ ; 1.05 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  at pH 7.4.

### 5-Fluorouracile assay

The concentration of 5-FU was assayed on both peritoneum biopsies and serum collected from the vena cava at the end of the experiment. The assay was a modification of the method described by Pi *et al*[153]. An aliquot of 250  $\mu\text{l}$  of the 0,22  $\mu\text{m}$  filtrate of the peritoneum homogenate (collected after clarification - see OX assay) or of the serum was mixed with 50  $\mu\text{L}$  10 mM ammonium acetate buffer pH 3.5 and 1,5 mL of isopropanol-ethyl acetate (15: 85,

v/v). The mixture was vortex-mixed for 3 minutes and centrifuged at 8,000 G for 10 minutes. The organic phase was collected delicately to avoid any contamination by aqueous phase. Samples were evaporated to dryness at room temperature under a stream of air. The dry residues were kept at -20°C up to the injection on HPLC. At the time of the assay, samples were reconstituted with 100 µL of mobile phase and filtered on 0.22 µm GHP filter (Pall Canada, St-Laurent, Qc, Canada) just before the injection.

Aliquot of 20 µL were used for 5-FU measurement. This was performed using the same HPLC and column used for OX assay. The mobile phase containing acetonitrile and 10 mM ammonium acetate pH 3,5 which was run in isocratic condition (2.5: 97.5 v/v) at a constant flow rate of 0.8 mL/min. The column temperature was maintained at 25 °C. The analytes were detected at 265 nm. A standard curve (ranging from 0.1 to 250 µM) was prepared with pure 5-FU (Toronto Research Chemical, Toronto, On, Canada) mixed with 10% rat serum and treated and assayed as unknown serum samples.

### **Statistical analysis**

The concentrations of OX and 5-FU obtained from chromatography were compared using the SPSS v 11.5 software. A one-way ANOVA was used to compare the concentrations associated to the various doses of 5-FU for each sample site. If a significant difference was found, it was followed by Sheffe post-hoc comparison. A p value < 0.05 was considered significant.

## RESULTS

For all procedures, we did not observe any obstruction nor any leak of the perfusion system. Variation in perfusate temperature was minimal ( $<1.0^{\circ}\text{C}$ ) once the desired temperature was reached. Thirty-one rats were used, however, seven were not analyzed. They either died prematurely during the procedure or sustained a deviation from the protocol (leak of chemotherapeutic agent at the moment of injection, presence of air in the circuit and administration of the wrong IP drug).

The effect of the dose of 5-FU on systemic serum and peritoneal tissue concentrations of 5-FU is presented in **Figure 2** and **Figure 3**. Concentration of 5-FU in the vena cava serum increased with each incremental dose of IV 5-FU ( $R^2 = 0.990$ ). We also observed a proportional increase in the peritoneal concentration of 5-FU as the dose of IV 5-FU increased ( $R^2 = 0.9676$ ).

As shown in **Table 2** and **Figure 4**, the peritoneal absorption of OX was significantly higher (17.0, 20.1, 34.9 and 38.1 nmol/g,  $p < 0.0001$ ) with increasing doses of IV 5-FU (0, 100, 400 and 800 mg/m<sup>2</sup>, respectively).

The effect of 5-FU concentration in the vena cava serum and in the peritoneum on OX uptake in peritoneal tissue is illustrated in **Figure 5** and **Figure 6**, respectively. As the vena cava serum concentration of 5-FU increased, peritoneal tissue absorption of OX significantly increased (ANOVA,  $p < 0.0001$ ). Similarly, with increasing peritoneal concentrations of 5-FU,

we observed a significant increase in the peritoneal concentration of OX (ANOVA,  $p < 0.0001$ ).

However, the peritoneal absorption of OX reached a plateau between 400 and 800 mg/m<sup>2</sup> of IV administered 5-FU (**Figure 4**, **Figure 5** and **Figure 6**).

## **DISCUSSION**

Because 5-FU and OX exert a synergistic effect when both are administered by systemic route[4, 59, 146, 187, 188], IV 5-FU is empirically used in combination with HIPEC OX by many surgical teams. However, whether this practice leads to any similar benefit remains unclear.

Our study showed that with increasing IV doses of 5-FU, systemic and peritoneal concentration of 5-FU were significantly higher. This observation reinforces the use of fluoropyrimidine-based regimens in the systemic treatment of peritoneal carcinomatosis of colorectal origin[26].

The most important finding of this animal study is the confirmation that systemic administration of 5-FU leads to increased concentration of OX in the peritoneum. Because OX was detected by chromatography in its active form in the peritoneal tissue, it can be concluded that 5-FU enhances OX activity. Although assumed to be the case by many investigators, to our knowledge such an effect has never clearly been demonstrated. This study also showed

that peritoneal tissue absorption of OX increased in correlation with rising systemic and peritoneal concentrations of 5-FU. For example, the administration of 400 mg/m<sup>2</sup> of IV 5-FU more than doubled the peritoneal absorption of OX when compared to no IV 5-FU. When looking at the results of our previous experiment, this increase is superior to the effect of rising the perfusion temperature of OX from 37 to 43°C, and is similar to the impact of doubling the IP concentration of OX[142]. These results suggest a local interaction between the 2 molecules. No similar interaction has ever been described when studying the synergistic effect of systemically administered OX and 5-FU[6, 189-191]. It thus seems that the combination of systemic 5-FU with heated intraperitoneal OX results in a different interaction in the peritoneum. The mechanisms by which systemic 5-FU affect the absorption of IP OX remain unclear. It is hypothesized that 5-FU induces the formation of oxaliplatin adducts, thereby stabilizing and increasing peritoneal OX. In a previous study, we showed that heat enhanced the peritoneal absorption of IP OX[142]. Thus, higher peritoneal concentrations of OX available for interaction with 5-FU could result in increased development of stable OX adducts. Furthermore, 5-FU's effect on arterial vasoconstriction could also be involved. Fluoropyrimidines have been linked to vascular toxicities, especially cardiac events. This effect is thought to be due, at least in part, to increased vasospastic activity[193-195]. Thus, 5-FU induced vasospasm could lead to increased pooling of OX in peritoneal tissue. Nonetheless, more experiments are needed to verify these hypotheses.

Another important finding of this study is that although peritoneal absorption of OX increased with dose escalation of IV 5-FU, it appeared to reach a plateau between doses of 400 and 800 mg/m<sup>2</sup>. This is of great interest because it implies a saturation process of the interaction

between the 2 drugs, suggesting that higher doses could lead to greater side effects with little added cytotoxic benefit.

Finally, in this study, we harvested samples only once at the end of the peritoneal perfusion so that we were not able to construct curves that characterized the pharmacokinetics of IV 5-FU and IP OX. As much as the results obtained suggest a significant difference in the various concentrations measured when the dose vary, multiple measurements would have more adequately reflected drug distribution during and after IP perfusion. However, such serial measurements are difficult to obtain using murine models as each blood sample taken significantly affects the total blood volume; similarly, each tissue sample puts the animal at risk of premature death. Another limitation of this study is the small number of samples, which is a frequent issue in animal studies.

## **CONCLUSION**

This study confirms that systemic 5-FU potentiates local absorption of heated IP oxaliplatin. The most efficient dose of IV 5-FU to be used in combination with HIPEC OX seems to be 400 mg/m<sup>2</sup>. These are strong arguments supporting the use of IV 5-FU with HIPEC OX but further investigations are required to clarify the mechanisms underlying this interaction.





## REFERENCES

1. Jayne, D.G., et al., *Peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer*. Br J Surg, 2002. **89**(12): p. 1545-50.
2. Glehen, O., et al., *Natural history of peritoneal carcinomatosis from nongynecologic malignancies*. Surg Oncol Clin N Am, 2003. **12**(3): p. 729-39, xiii.
3. Esquivel, J., et al., *Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in the management of peritoneal surface malignancies of colonic origin: a consensus statement*. Society of Surgical Oncology. Ann Surg Oncol, 2007. **14**(1): p. 128-33.
4. Giacchetti, S., et al., *Phase III trial comparing 4-day chronomodulated therapy versus 2-day conventional delivery of fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin as first-line chemotherapy of metastatic colorectal cancer: the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Chronotherapy Group*. J Clin Oncol, 2006. **24**(22): p. 3562-9.
5. Joel, S.P., et al., *Lack of pharmacokinetic interaction between 5-fluorouracil and oxaliplatin*. Clin Pharmacol Ther, 2004. **76**(1): p. 45-54.
6. Goodman, M.D., et al., *Chemotherapy for intraperitoneal use: a review of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy and early post-operative intraperitoneal chemotherapy*. J Gastrointest Oncol, 2016. **7**(1): p. 45-57.
7. Franko, J., et al., *Treatment of colorectal peritoneal carcinomatosis with systemic chemotherapy: a pooled analysis of north central cancer treatment group phase III trials N9741 and N9841*. J Clin Oncol, 2012. **30**(3): p. 263-7.
8. Franko, J., et al., *Prognosis of patients with peritoneal metastatic colorectal cancer given systemic therapy: an analysis of individual patient data from prospective randomised trials from the Analysis and Research in Cancers of the Digestive System (ARCAD) database*. Lancet Oncol, 2016. **17**(12): p. 1709-1719.
9. Klaver, Y.L., et al., *Outcomes of colorectal cancer patients with peritoneal carcinomatosis treated with chemotherapy with and without targeted therapy*. Eur J Surg Oncol, 2012. **38**(7): p. 617-23.
10. Cunliffe, W.J. and P.H. Sugarbaker, *Gastrointestinal malignancy: rationale for adjuvant therapy using early postoperative intraperitoneal chemotherapy*. Br J Surg, 1989. **76**(10): p. 1082-90.
11. Cao, C.Q., et al., *Comparison of optimally resected hepatectomy and peritonectomy patients with colorectal cancer metastasis*. J Surg Oncol, 2009. **100**(7): p. 529-33.
12. Elias, D., et al., *Complete cytoreductive surgery plus intraperitoneal chemohyperthermia with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin*. J Clin Oncol, 2009. **27**(5): p. 681-5.
13. Cashin, P.H., et al., *Cytoreductive surgery and intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy for colorectal peritoneal metastases: A randomised trial*. Eur J Cancer, 2016. **53**: p. 155-62.
14. Rietbroek, R.C., et al., *Hyperthermia enhances the cytotoxicity and platinum-DNA adduct formation of lobaplatin and oxaliplatin in cultured SW 1573 cells*. J Cancer Res Clin Oncol, 1997. **123**(1): p. 6-12.

15. Piche, N., et al., *Rationale for heating oxaliplatin for the intraperitoneal treatment of peritoneal carcinomatosis: a study of the effect of heat on intraperitoneal oxaliplatin using a murine model*. *Ann Surg*, 2011. **254**(1): p. 138-44.
16. Elias, D., et al., *Heated intra-operative intraperitoneal oxaliplatin after complete resection of peritoneal carcinomatosis: pharmacokinetics and tissue distribution*. *Ann Oncol*, 2002. **13**(2): p. 267-72.
17. Quenet, F., et al., *Results of two bi-institutional prospective studies using intraperitoneal oxaliplatin with or without irinotecan during HIPEC after cytoreductive surgery for colorectal carcinomatosis*. *Ann Surg*, 2011. **254**(2): p. 294-301.
18. Hompes, D., et al., *The treatment of peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer with complete cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal peroperative chemotherapy (HIPEC) with oxaliplatin: a Belgian multicentre prospective phase II clinical study*. *Ann Surg Oncol*, 2012. **19**(7): p. 2186-94.
19. Gervais, M.K., et al., *Cytoreductive surgery plus hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis arising from colorectal cancer*. *J Surg Oncol*, 2013. **108**(7): p. 438-43.
20. Giacchetti, S., et al., *Phase III multicenter randomized trial of oxaliplatin added to chronomodulated fluorouracil-leucovorin as first-line treatment of metastatic colorectal cancer*. *J Clin Oncol*, 2000. **18**(1): p. 136-47.
21. Giacchetti, S., et al., *Long-term survival of patients with unresectable colorectal cancer liver metastases following infusional chemotherapy with 5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin and surgery*. *Ann Oncol*, 1999. **10**(6): p. 663-9.
22. Badrudin, D., et al., *Pharmacokinetics and the effect of heat on intraperitoneal pemetrexed using a murine model*. *Surg Oncol*, 2016. **25**(4): p. 435-440.
23. Badrudin D, Dubé P, Sideris L. *J Rare Dis Res Treat*. (2016) 2(1): 23-26.
24. de Gramont, A., et al., *Randomized trial comparing monthly low-dose leucovorin and fluorouracil bolus with bimonthly high-dose leucovorin and fluorouracil bolus plus continuous infusion for advanced colorectal cancer: a French intergroup study*. *J Clin Oncol*, 1997. **15**(2): p. 808-15.
25. Pi, C., et al., *Development of a HPLC method to determine 5-fluorouracil in plasma: application in pharmacokinetics and steady-state concentration monitoring*. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2014. **52**(12): p. 1093-101.
26. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures*. 2012. . Available from: <http://www.cancer.org>.
27. Koopman, M., et al., *Sequential versus combination chemotherapy with capecitabine, irinotecan, and oxaliplatin in advanced colorectal cancer (CAIRO): a phase III randomised controlled trial*. *Lancet*, 2007. **370**(9582): p. 135-42.
28. Tol, J., et al., *A randomised phase III study on capecitabine, oxaliplatin and bevacizumab with or without cetuximab in first-line advanced colorectal cancer, the CAIRO2 study of the Dutch Colorectal Cancer Group (DCCG). An interim analysis of toxicity*. *Ann Oncol*, 2008. **19**(4): p. 734-8.
29. Esquivel, J., et al., *The American Society of Peritoneal Surface Malignancies (ASPSM) Multiinstitution Evaluation of the Peritoneal Surface Disease Severity Score (PSDSS) in 1,013 Patients with Colorectal Cancer with Peritoneal Carcinomatosis*. *Ann Surg Oncol*, 2014. **21**(13): p. 4195-201.

30. Chua, T.C., et al., *Summary of current therapeutic options for peritoneal metastases from colorectal cancer*. J Surg Oncol, 2013. **107**(6): p. 566-73.
31. Glehen, O., et al., *Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a multi-institutional study*. J Clin Oncol, 2004. **22**(16): p. 3284-92.
32. da Silva, R.G. and P.H. Sugarbaker, *Analysis of prognostic factors in seventy patients having a complete cytoreduction plus perioperative intraperitoneal chemotherapy for carcinomatosis from colorectal cancer*. J Am Coll Surg, 2006. **203**(6): p. 878-86.
33. Shen, P., et al., *Peritoneal surface disease from colorectal cancer: comparison with the hepatic metastases surgical paradigm in optimally resected patients*. Ann Surg Oncol, 2008. **15**(12): p. 3422-32.
34. Chua, T.C., et al., *Significance of lymph node metastasis in patients with colorectal cancer peritoneal carcinomatosis*. World J Surg, 2009. **33**(7): p. 1488-94.
35. Franko, J., et al., *Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemoperfusion versus systemic chemotherapy alone for colorectal peritoneal carcinomatosis*. Cancer, 2010. **116**(16): p. 3756-62.
36. Elias, D., et al., *Results of systematic second-look surgery plus HIPEC in asymptomatic patients presenting a high risk of developing colorectal peritoneal carcinomatosis*. Ann Surg, 2011. **254**(2): p. 289-93.
37. Ung, L., T.C. Chua, and L.M. David, *Peritoneal metastases of lower gastrointestinal tract origin: a comparative study of patient outcomes following cytoreduction and intraperitoneal chemotherapy*. J Cancer Res Clin Oncol, 2013. **139**(11): p. 1899-1908.
38. Bleiberg, H. and A. de Gramont, *Oxaliplatin plus 5-fluorouracil: clinical experience in patients with advanced colorectal cancer*. Semin Oncol, 1998. **25**(2 Suppl 5): p. 32-9.
39. Schmoll, H.J., et al., *Effect of adjuvant capecitabine or fluorouracil, with or without oxaliplatin, on survival outcomes in stage III colon cancer and the effect of oxaliplatin on post-relapse survival: a pooled analysis of individual patient data from four randomised controlled trials*. Lancet Oncol, 2014. **15**(13): p. 1481-92.
40. Afzal, S., et al., *Oxidative damage to guanine nucleosides following combination chemotherapy with 5-fluorouracil and oxaliplatin*. Cancer Chemother Pharmacol, 2012. **69**(2): p. 301-7.
41. Failli, A., et al., *Evaluation of in vitro cytotoxicity of oxaliplatin and 5-fluorouracil in human colon cancer cell lines: combination versus sequential exposure*. J Biol Regul Homeost Agents, 2011. **25**(4): p. 575-88.
42. Kiyonari, S., et al., *The 1,2-Diaminocyclohexane Carrier Ligand in Oxaliplatin Induces p53-Dependent Transcriptional Repression of Factors Involved in Thymidylate Biosynthesis*. Mol Cancer Ther, 2015. **14**(10): p. 2332-42.
43. Herrmann, J., et al., *Vascular Toxicities of Cancer Therapies: The Old and the New-- An Evolving Avenue*. Circulation, 2016. **133**(13): p. 1272-89.
44. Polk, A., et al., *A systematic review of the pathophysiology of 5-fluorouracil-induced cardiotoxicity*. BMC Pharmacol Toxicol, 2014. **15**: p. 47.
45. Sorrentino, M.F., et al., *5-fluorouracil induced cardiotoxicity: review of the literature*. Cardiol J, 2012. **19**(5): p. 453-8.
46. Klaver, C.E., et al., *Adjuvant hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) in patients with colon cancer at high risk of peritoneal carcinomatosis; the COLOPEC randomized multicentre trial*. BMC Cancer, 2015. **15**: p. 428.

47. Esquivel, J., *Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for colorectal cancer: survival outcomes and patient selection*. J Gastrointest Oncol, 2016. 7(1): p. 72-8.
48. Cao, C., et al., *A systematic review and meta-analysis of cytoreductive surgery with perioperative intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin*. Ann Surg Oncol, 2009. 16(8): p. 2152-65.

**Figure 1.** Picture of the experimental setup.

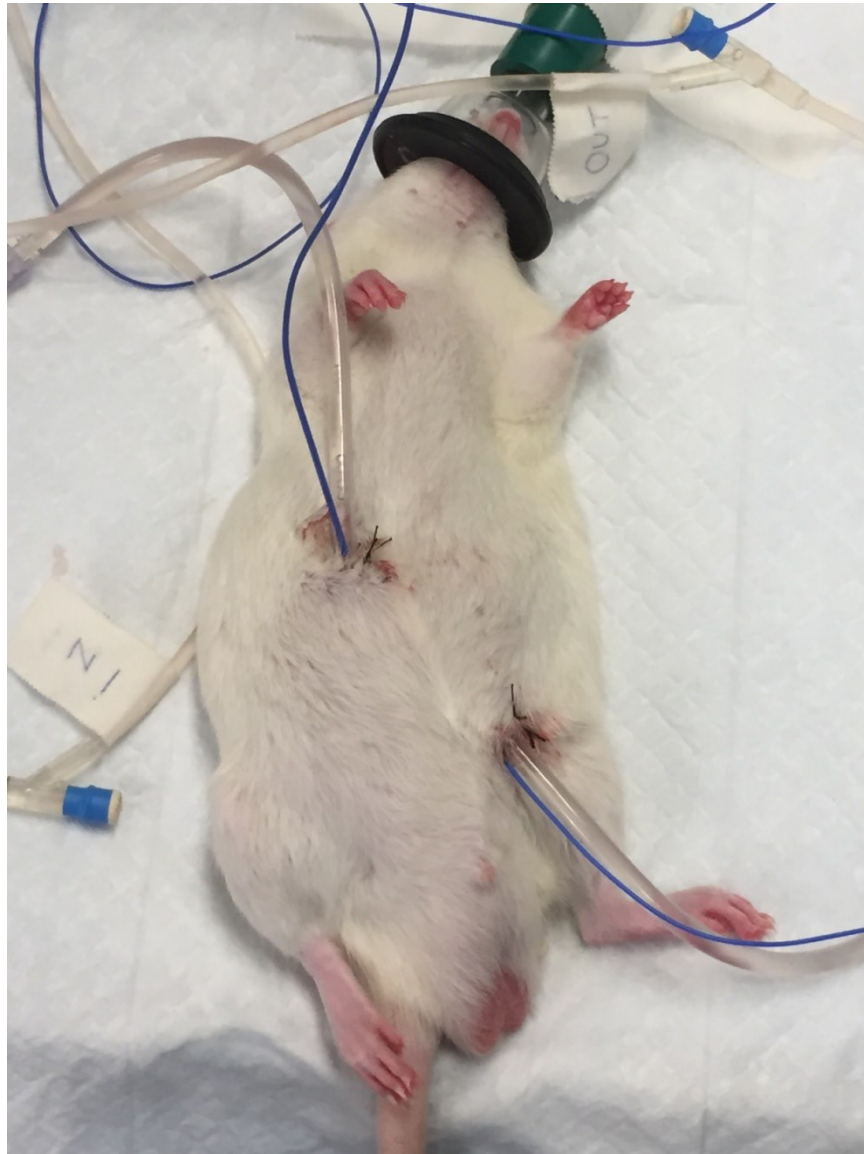
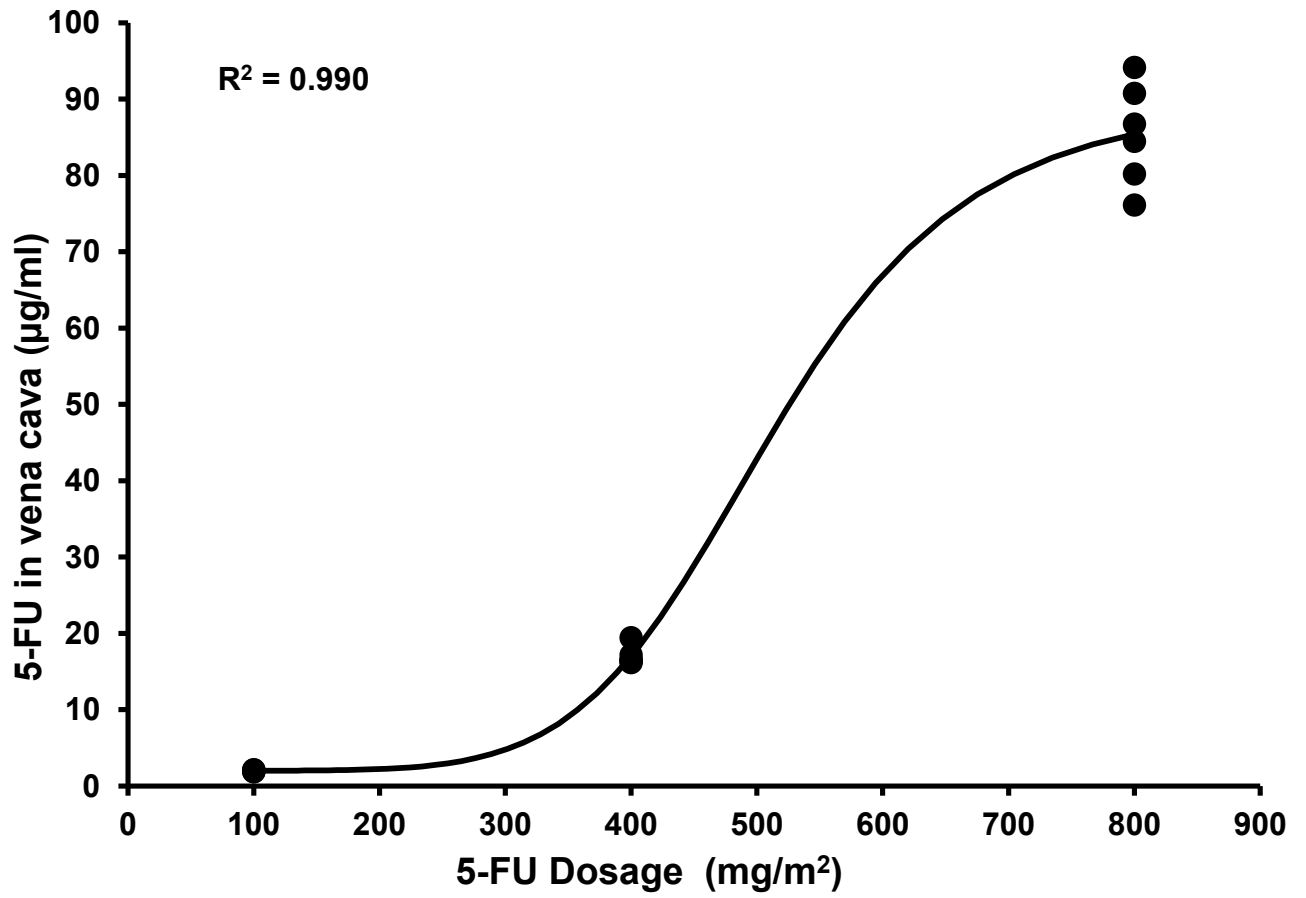
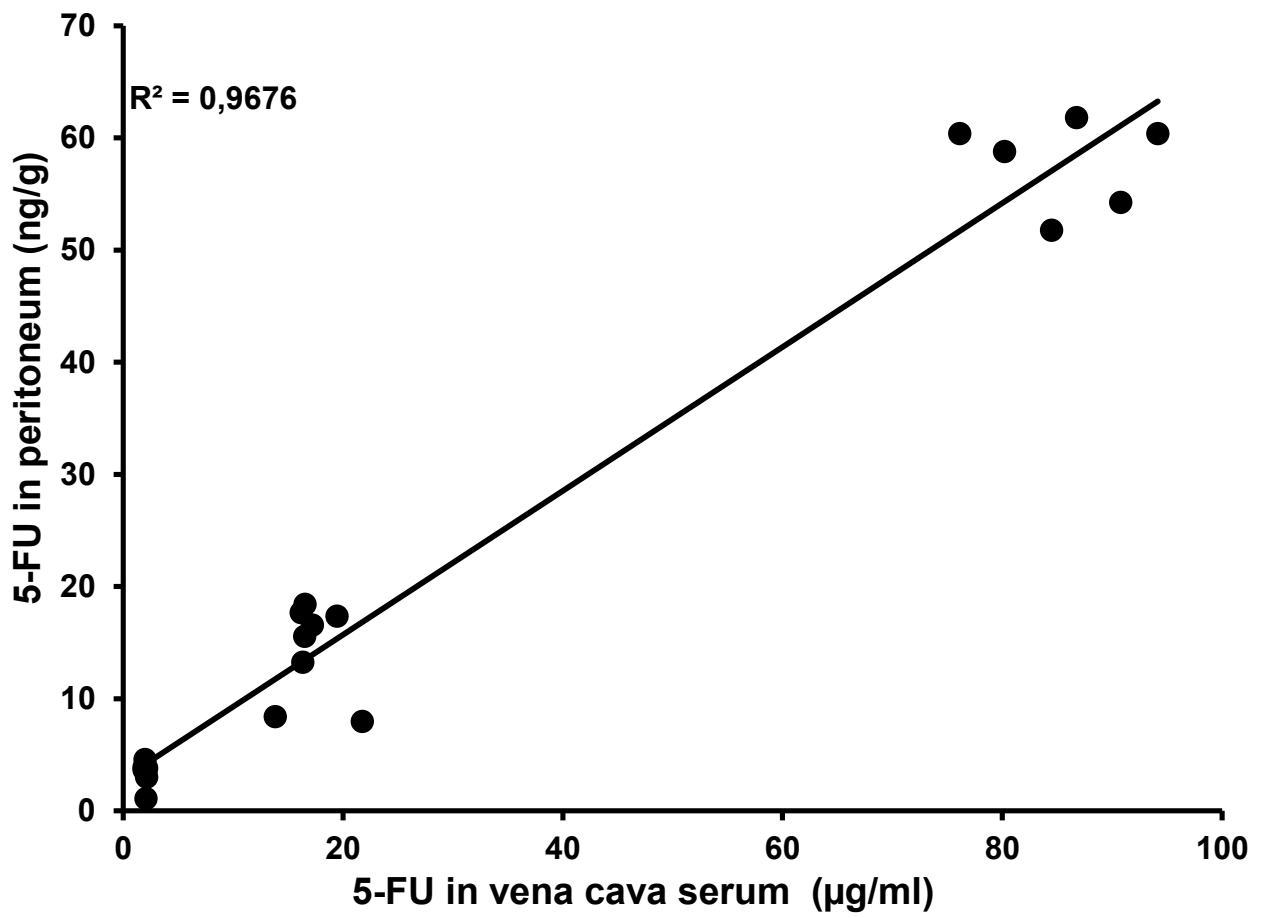


Figure 2. Relation between 5-FU dosage and 5-FU concentration in vena cava serum

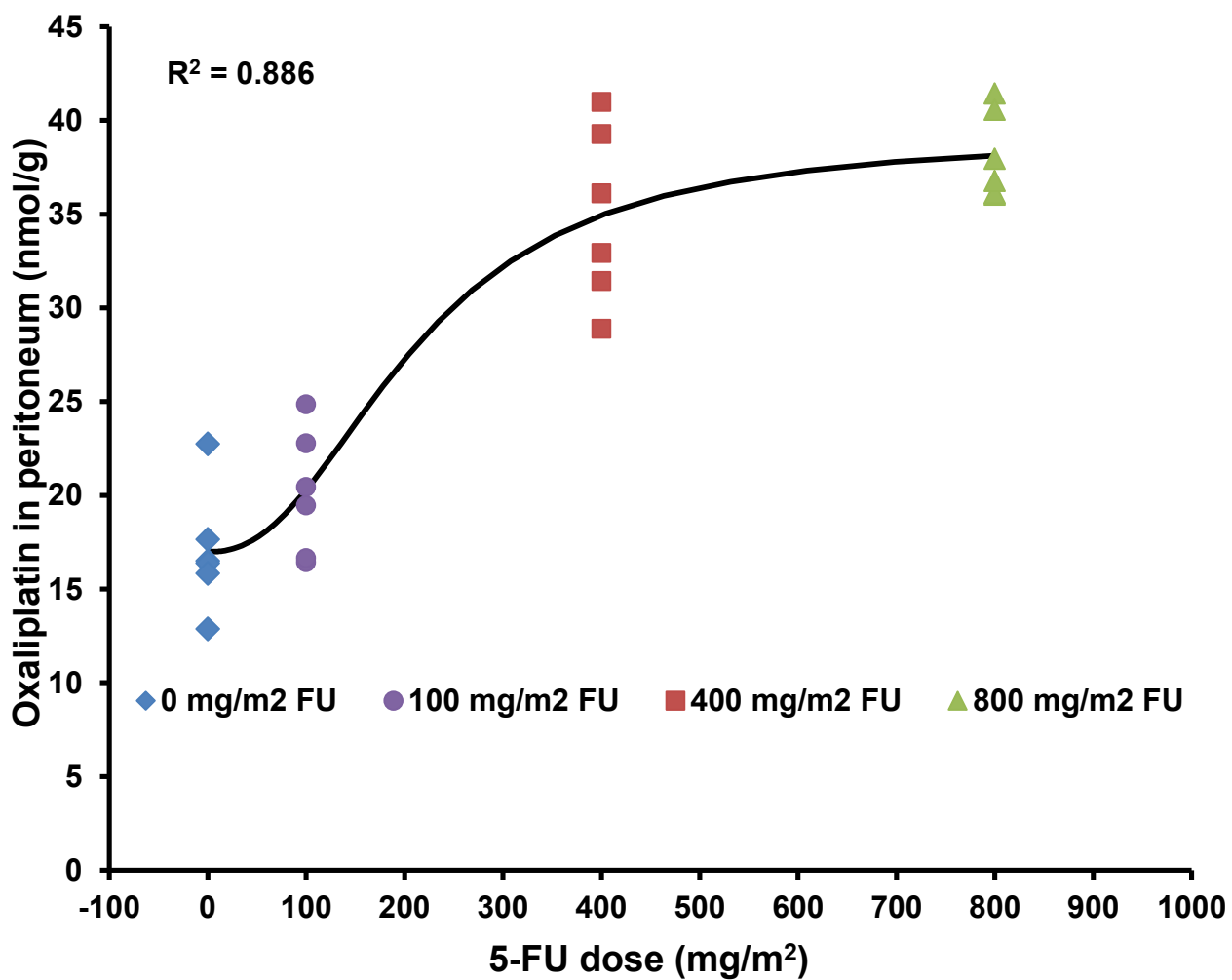


**Figure 3.** Relation between 5-FU concentration in the vena cava serum and 5-FU concentration in the peritoneum

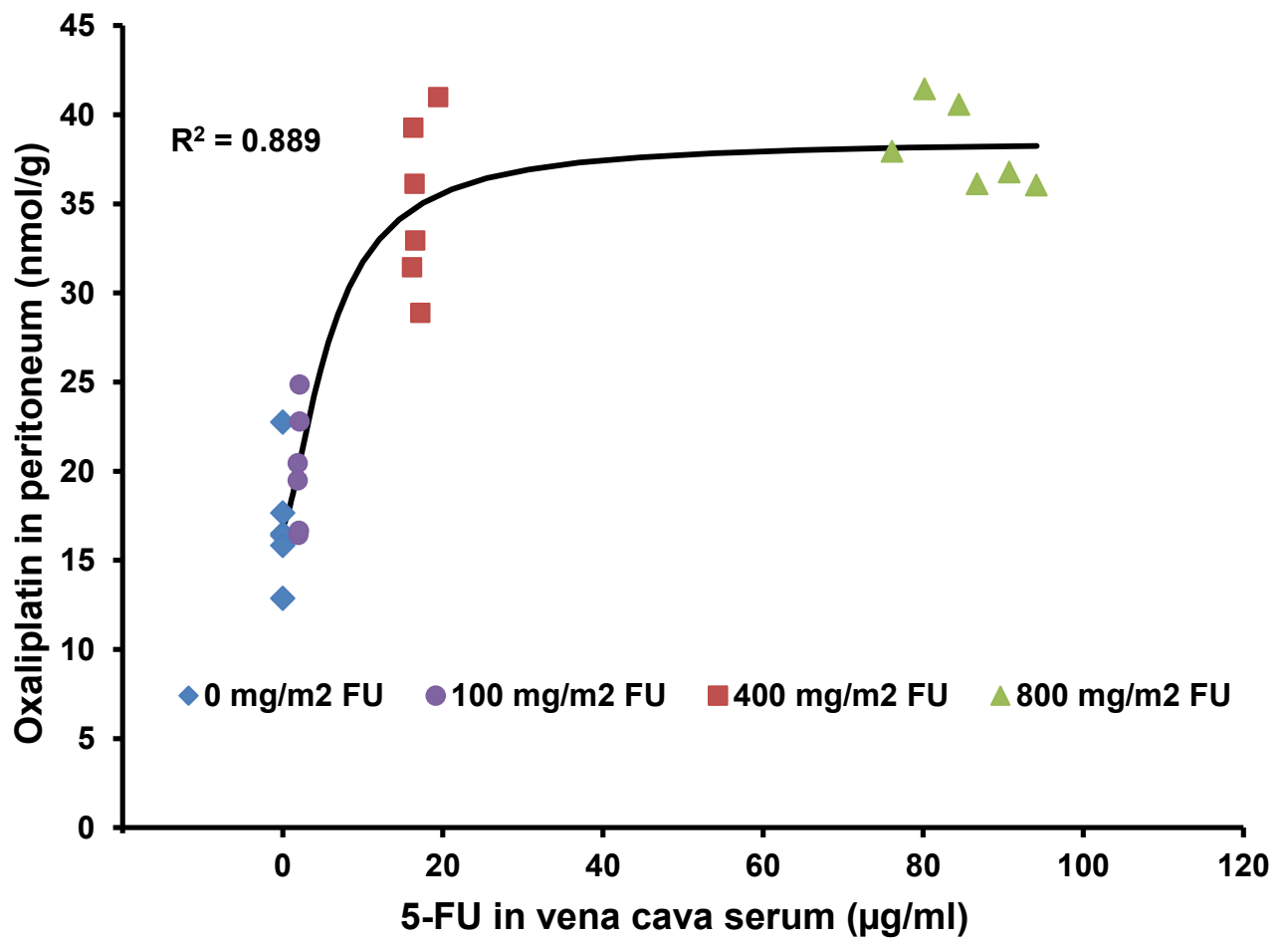




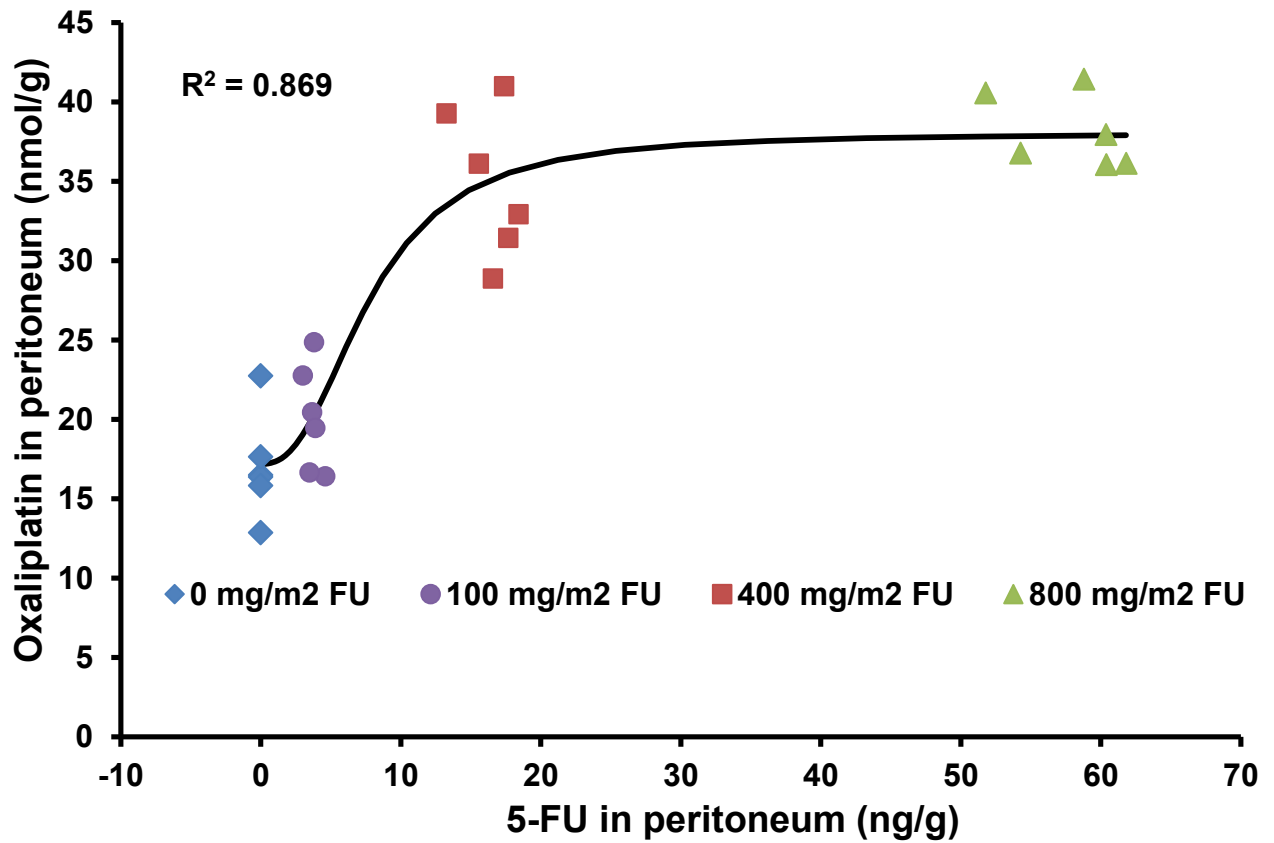
**Figure 4.** Effect of 5-FU dosage on oxaliplatin uptake by peritoneum



**Figure 5.** Effect of vena cava serum concentration of 5-FU on oxaliplatin uptake by peritoneum



**Figure 6.** Effect of peritoneal concentration of 5-FU on oxaliplatin uptake by peritoneum



**Table 1.** Experimental groups according to doses and perfusion temperature. n-: number of subjects

Group	Dose of IV 5-FU (mg/m <sup>2</sup> )	Dose of IP oxaliplatin (mg/m <sup>2</sup> )	Temperature (°C)
1 (n = 6)	0	460	40
2 (n = 6)	100	460	40
3 (n = 6)	400	460	40
4 (n = 6)	800	460	40

**Table 2.** Oxaliplatin concentration in the peritoneum when different doses of IV 5-FU were administered. Mean (SD)

Dose of 5-FU (mg/m <sup>2</sup> )	Concentration of oxaliplatin (nmol/g)
0	17.0 (3.2)
100	20.1 (3.3)
400	34.9 (4.7)
800	38.1 (2.3)