

## Nederlandse samenvatting

---

## ACHTERGROND

Longkanker is een ziekte die moeilijk is te behandelen. Veelal zijn er uitzaaiingen naar andere organen op het moment van diagnose en kan genezing niet meer worden bereikt. In dat geval wordt chemotherapie gegeven om de ziekte af te remmen met als doel levensverlenging en klachtenvermindering. Omdat de winst beperkt is, wordt met wetenschappelijk onderzoek gezocht naar nieuwe medicijnen die effectiever zijn dan de bestaande.

Tumoren bestaan uit een complex netwerk van kwaadaardige cellen en ondersteunende structuren zoals bloedvaten en bindweefsel waar op microscopisch niveau vele processen tegelijkertijd plaats vinden die de tumor in staat stellen te groeien en zijn destructieve werk uit te voeren. Het profiel van deze processen verschilt tussen typen kanker (bijvoorbeeld tussen borstkanker en longkanker) en de chemotherapeutische behandeling gericht tegen deze processen is dan ook afhankelijk van het type kanker. Recent onderzoek laat zien dat zelfs binnen hetzelfde type kanker dit profiel verschillend kan zijn. Dit betekent dat patiënt A met longkanker het beste behandeld kan worden met chemotherapie X, terwijl patiënt B met longkanker het beste behandeld kan worden met chemotherapie Y. Om erachter te komen welke behandeling het meest effectief is op individueel niveau, dient de behandelend specialist voorafgaand aan en tijdens de behandeling op de hoogte te zijn van het tumorprofiel. Onderzoeken die gericht zijn op het vinden van specifieke kenmerken in het tumorprofiel noemen we “biomarkers”. Door de informatie van deze biomarkers te relateren aan de prognose van een patiënt, de respons op behandeling, of het overlevingsvoordeel na behandeling krijgen zij een voorspellend vermogen en ontstaan respectievelijk prognostische, voorspellende en surrogaat eindpunt biomarkers. Daarnaast kunnen biomarkers inzicht bieden over het werkingsmechanisme van de behandeling. Dit worden farmacodynamische biomarkers genoemd en geven aan of een biologisch proces heeft plaatsgevonden of is veranderd door behandeling. Belangrijk is om biomarker informatie zo vroeg mogelijk te verkrijgen, het liefst voor aanvang van de behandeling, om langdurige therapie met niet of onvoldoende werkzame medicatie te voorkomen. Dit laatste is namelijk geassocieerd met onnodige bijwerkingen en achteruitgang in conditie waardoor patiënten niet meer in aanmerking komen voor een andere behandeling en daardoor korter leven.

De behandelend specialist heeft meerdere onderzoeken tot zijn beschikking die als biomarker kunnen fungeren. Voorbeelden zijn tumorpunctie, bloedonderzoek en beeldvormend onderzoek. De ideale biomarker is een onderzoek dat accuraat, reproduceerbaar, makkelijk uitvoerbaar en toepasbaar, minimaal invasief, veilig en goedkoop is. Beeldvormend onderzoek is hiervoor uitermate geschikt. Dit type onderzoek kan meerdere malen worden herhaald zonder al te grote belasting voor de patiënt, mede omdat het een niet-invasief onderzoek is (in tegenstelling tot bijvoorbeeld herhaalde puncties). Daarnaast maakt beeldvormend onderzoek het mogelijk meerdere tumorlaesies tegelijkertijd te anal-

yseren, waardoor gekeken kan worden naar heterogeniteit van het tumorprofiel binnen de patiënt.

De huidige standaard voor beeldvormend onderzoek is de CT scan, een techniek die de tumor diameter in beeld brengt. Aan dit onderzoek kleven meerdere bezwaren. Afname en toename van tumor diameter is een relatief langzaam proces waardoor het niet als vroege biomarker kan worden ingezet. Daarnaast heeft het een geringe relatie met (progressie-vrije) overleving. Omdat veel nieuwe behandelingen resulteren in stabilisatie van tumor diameter en niet zozeer in afname, is tumor diameter een minder gevoelige maat voor therapie evaluatie.

Een alternatief is positron emissie tomografie (PET). PET scanners detecteren het verval van radioactieve stoffen (tracers). Door een stof te volgen in het lichaam die belangrijk is voor de tumor kan inzicht worden verkregen in het tumorprofiel. Het is een dynamische techniek die kijkt naar het gedrag van de tumor (hoe gaat de tumor met een stof om en hoe verandert dit door behandeling) in tegenstelling tot de statische CT techniek die enkel kijkt naar tumor diameter. Als bekend is dat een bepaalde stof (als voorbeeld nemen we glucose) cruciaal is voor tumorgroei en een behandeling is gevonden die de toevoer of het metabolisme van deze stof (glucose) blokkeert, kan deze stof fungeren als een goede PET biomarker. Voor aanvang van behandeling kan een scan worden gemaakt. Tumoren die veel glucose opnemen zullen waarschijnlijk goed reageren op de behandeling, terwijl tumoren met weinig glucose opname minder afhankelijk zijn van de brandstof voor groei en waarschijnlijk minder baat zullen hebben van het medicament. Een scan tijdens behandeling laat zien of glucose opname en metabolisme ook echt afnemen. Misschien zijn er wel meerdere mechanismen voor glucose opname en metabolisme en blokkeert het medicament net het verkeerde mechanisme bij sommige patiënten. Hier kan dan weer nieuw onderzoek naar verricht worden om te kijken of voor deze patiënten een nieuw medicijn is te ontwikkelen.

Een tweede alternatief voor CT is “dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging” (DCE-MRI). Dit is een dynamische MRI techniek waarbij de structuur en functie van bloedvaten kunnen worden beoordeeld door de passage van een contrastmiddel met hele kleine deeltjes daarin te volgen door het tumor vaatnetwerk. Met DCE-MRI kunnen de doorbloeding, het bloedvolume en de mate van lekkage van het vaatnetwerk in een tumor worden berekend.

Net als geneesmiddelen moeten ook biomarkers ontwikkeld en getest worden voordat zij toegepast kunnen worden in de behandeling van patiënten. Dit gebeurt door validatie en kwalificatie. Validatie is onderzoek naar de accuraatheid (meet de biomarker wat het beoogt te meten en is deze meting gevoelig en specifiek?) en de reproduceerbaarheid. Kwalificatie omschrijft het onderzoek naar de voorspellende waarde. De eisen waaraan een biomarker moet voldoen dient overeen te komen met de mate van invloed op de behandeling van een patiënt. Wanneer een biomarker directe invloed heeft op de behandelstrategie moet worden voldaan aan de hoogste kwaliteitseisen.

---

Het doel van dit proefschrift is om PET biomarkers te valideren en te kwalificeren als surrogaat eindpunt biomarkers voor de respons op een specifieke kanker behandeling. Deze behandeling is gericht tegen de bloedvaten van tumoren waardoor de tumor minder bloed en dus minder zuurstof en voedingsstoffen krijgt. Geneesmiddelen in deze klasse worden antiangiogenese middelen genoemd. Ze zijn werkzaam door vaatnieuwvorming tegen te gaan en het bestaande vaatnetwerk te normaliseren. Dit laatste is zinvol omdat bloedvaten in een tumor erg poreus zijn waardoor de druk in een tumor hoog is en chemotherapie moeilijk in de tumor doordringt.

### **TUMOR DOORBLOEDING METEN MET PET EN MRI**

In hoofdstuk twee wordt de meting van tumordoorbloeding met PET en MRI besproken aan de hand van de bestaande literatuur. Hoewel beide scanmethoden informatie geven over tumor doorbloeding, is de aard van het signaal verschillend. PET maakt gebruik van radioactief water wat vrij kan bewegen door het lichaam en de tumor. MRI maakt gebruik van Gadolinium, een contrastmiddel dat niet vrij door de vaatwand kan bewegen en dus afhankelijk is van de mate van poreusheid (permeabiliteit) van bloedvaten. Hierdoor meet PET specifiek de doorbloeding in een tumor, terwijl MRI een combinatie van doorbloeding, vaatwand oppervlak en permeabiliteit meet. Deze resultante wordt de endotheliale transfer constante ( $K^{trans}$ ) genoemd.

Hoofdstuk twee laat zien dat PET en MRI betrouwbaar de tumordoorbloeding en de endotheliale transfer constante meten, op voorhand dat een zekere mate van standaardisatie in de meetmethode en data analyse wordt toegepast. Beide scanmethoden zijn in staat om therapie effecten van angiogenese remmers te detecteren. De verschillende aard van het MRI en PET signaal maakt hun informatie uniek waardoor deze elkaar kunnen aanvullen. In theorie kan de permeabiliteit over het tumorvaatoppervlak worden geïsoleerd uit het  $K^{trans}$  signaal door deze te corrigeren voor de doorbloeding, gemeten met PET.

### **VALIDATIE VAN PET BIOMARKERS**

De behandeling die onderzocht wordt op werkzaamheid in dit proefschrift is deels gericht tegen een groeifactor voor bloedvaten (vasculaire endotheliale groei factor, VEGF) en deels tegen een specifiek groeiproces in de tumor dat geactiveerd wordt door activatie van een receptor op tumorcellen (de epidermale groei factor receptor, EGFR). Om het effect van deze therapie zo vroeg mogelijk te kunnen detecteren kwamen drie PET biomarkers ( $H_2^{15}O$ ,  $^{18}F$ -FLT,  $^{18}F$ -FDG) en één MRI biomarker ( $K^{trans}$ ) in aanmerking.

## Reproduceerbaarheid

**Hoofdstuk 3 tot en met 5** beschrijven studies die de reproduceerbaarheid van de drie PET biomarkers onderzoeken. Deze studies laten zien dat alle onderzochte PET tracers een goede reproduceerbaarheid hebben.

**In hoofdstuk drie** wordt de reproduceerbaarheid van  $^{18}\text{F}$ -FDG, een marker van glucose metabolisme, besproken. Een meta-analyse (gezamenlijke analyse van data uit meerdere studies) werd verricht om te kijken naar de samengestelde test-retest variabiliteit. De opname werd gekwantificeerd door gebruik te maken van de “standardized uptake value” (SUV). De SUV kan bepaald worden voor een deel van de tumor of voor de hele tumor. Als alleen het meest actieve deel van de tumor wordt bekeken wordt deze maat de  $\text{SUV}_{\text{max}}$  genoemd, terwijl  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  het gemiddelde glucose metabolisme voor de hele tumor reflecteert.

Vergeleken met  $\text{SUV}_{\text{max}}$  is  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  beter reproduceerbaar. De test-retest variabiliteit was afhankelijk van de mate van  $^{18}\text{F}$ -FDG opname. Tumoren met geringe opname hebben een slechtere reproduceerbaarheid. Tumor volume heeft slechts een verwaarloosbare invloed op de reproduceerbaarheid van SUV. Als twee PET scans met elkaar worden vergeleken geeft een verschil van minimaal 20% en 1.2  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  units een werkelijk verschil aan in glucose metabolisme. Kleinere verschillen kunnen het gevolg zijn van meetfouten.

**In hoofdstuk vier** wordt de reproduceerbaarheid van  $\text{H}_2^{15}\text{O}$ , een marker van doorbloeding, besproken. Omdat het contrast van doorbloedingsplaatjes met PET laag is werd met de patiënt in exact dezelfde positie, een aanvullend plaatje gemaakt met  $^{18}\text{F}$ -FLT. Op dit laatste plaatje konden de plek en de grenzen van de tumor goed worden beoordeeld. Voor dit volume werd de gemiddelde doorbloeding berekend aan de hand van de  $\text{H}_2^{15}\text{O}$  data.

Als twee PET scans met elkaar worden vergeleken geeft een verschil van minimaal 18% een werkelijk verschil aan in tumordoorbloeding. Ook werd gekeken naar het verdelingsvolume van water ( $V_T$ ), waarbij een toename of afname van 32% of meer de test-retest variabiliteit overstijgt.

**In hoofdstuk vijf** wordt de reproduceerbaarheid van  $^{18}\text{F}$ -FLT, een marker van cel proliferatie, besproken. De mate van tracer opname (en dus cel proliferatie) werd, net als bij  $^{18}\text{F}$ -FDG, weergegeven met SUV. Daarnaast werd met een geavanceerde scanteknik ook in detail gekeken naar de verschillende constanten van opname, metabolisme en uitscheiding van de tracer door de tumor.

Als twee PET scans met elkaar worden vergeleken dan geeft een verschil van minimaal 15% in  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  en 20-25% in  $\text{SUV}_{\text{max}}$  en  $K_i$  (de bloed plasma naar tumor transfer constante) een werkelijk verschil aan in tumorproliferatie.

---

## KWALIFICATIE VAN H<sub>2</sub><sup>15</sup>O EN <sup>18</sup>F-FDG PET BIOMARKERS

Na de validatiestudies werd een klinische studie geïnitieerd met als doel de PET tracers te kwalificeren als vroege voorspellende biomarkers voor een langere progressie-vrije overleving (PFS) na behandeling. Hiervoor werden patiënten met niet-kleincellig longkanker behandeld met een combinatie van twee middelen gericht tegen EGFR en VEGF.

Drie tracers kwamen in aanmerking voor biomarker kwalificatie; <sup>18</sup>F-FDG, H<sub>2</sub><sup>15</sup>O en <sup>18</sup>F-FLT. De korte radioactieve halfwaardetijd van <sup>15</sup>O (2 minuten) maakt het mogelijk om aansluitend aan een H<sub>2</sub><sup>15</sup>O scan, een aanvullende scan met een andere tracer te maken om aanvullende metingen te verrichten aan het tumorprofiel. De lange halfwaardetijd van <sup>18</sup>F maakt een aanvullende scan met een <sup>18</sup>F tracer binnen één sessie onmogelijk. Daarom moest een keuze worden gemaakt tussen <sup>18</sup>F-FDG en <sup>18</sup>F-FLT. Vanwege de gedetailleerde kennis over de connectie tussen de EGFR cascade en glucose metabolisme werd gekozen voor <sup>18</sup>F-FDG.

**Hoofdstuk zes en zeven** beschrijven de resultaten van een klinische studie waarin een groep patiënten met uitgezaaid longkanker werden behandeld met bevacizumab (anti-VEGF) en erlotinib (anti-EGFR) tot progressie van ziekte (tumorgroei op een CT scan).

De voorspellende waarde van doorbloeding en glucose metabolisme metingen voor PFS zijn geëvalueerd met PET en MRI.

De mediane progressie-vrije en overall overleving in deze studie waren respectievelijk 3 en 6,9 maanden. Bij patiënten met een langer dan gemiddelde PFS nam de tumordoorbloeding met gemiddeld 20% af en K<sup>trans</sup> en SUV met gemiddeld 17%. Dit betekent dat de behandeling bij patiënten met een progressie-vrij overlevingsvoordeel heeft geresulteerd in afname van tumordoorbloeding en glucose metabolisme. Afname in tumordoorbloeding en SUV was niet zichtbaar bij patiënten zonder progressie-vrij overlevingsvoordeel. Tumor K<sup>trans</sup> liet een daling zien die onafhankelijk was van PFS.

Om de metingen te kwalificeren als surrogaat eindpunt biomarkers, hebben we de verandering in tumor diameter, doorbloeding, K<sup>trans</sup> en glucose metabolisme na drie weken therapie gerelateerd aan de PFS. Afname in tumor diameter, doorbloeding, K<sup>trans</sup> en SUV werd gezien in respectievelijk 14%, 26%, 18% en 43% van de patiënten. Afname van tumor diameter na drie weken was geassocieerd met ziektevrij overlevingsvoordeel (4,6 maanden vs. 2,9 maanden voor patiënten zonder afname van tumor diameter). Echter, 40% van de patiënten die later in het behandeltraject een afname in tumor diameter lieten zien, hadden nog geen afname na drie weken. Deze uitkomst komt overeen met resultaten uit eerdere studies waaruit blijkt dat verandering in tumor diameter een relatief traag proces is en kort na aanvang van behandeling een matige voorspeller is van PFS.

In patiënten met stabiele tumor diameter na drie weken was de tumordoorbloeding wel afgenomen

en de heterogeniteit van  $K^{\text{trans}}$  niet toegenomen na drie weken, wat laat zien dat deze parameters een beter onderscheidend vermogen hebben. Een toename in tumoorbloeding van 20% of meer was geassocieerd met een PFS voordeel (12,5 vs. 2,9 maanden voor patiënten zonder afname in tumoorbloeding).

Hoewel de afname in  $K^{\text{trans}}$  laat zien dat de biomarker in staat is om een verandering in het tumor vaatnetwerk te meten, kon de parameter niet gekwalificeerd worden als voorspellende biomarker door het ontbreken van een relatie met PFS. Exploratieve analyse van  $K^{\text{trans}}$  heterogeniteit binnen de tumor liet echter zien dat een toename van 15% of meer in de standaard deviatie van tumor  $K^{\text{trans}}$  (een toename van gebieden met hoge en lage  $K^{\text{trans}}$  waarden) na drie weken geassocieerd was met lagere PFS (2,3 vs. 7,0 maanden).

Een toename in  $K^{\text{trans}}$  heterogeniteit betekent grote verschillen in de endotheliale transfer constante binnen de tumor en dus grote wisselingen in tumor doorbloeding en/of vaatwand permeabiliteit en oppervlakte; kenmerken van een pathologisch vaatbed met gebieden met verhoogde vaatwand permeabiliteit en/of doorbloeding en gebieden met sterk verminderde doorbloeding en/of vaatwand permeabiliteit en oppervlakte.

Hoewel,  $K^{\text{trans}}$  heterogeniteit veelbelovend lijkt te zijn, is de parameter nog niet afdoende gevalideerd en gekwalificeerd. In deze studie bleek een afkapwaarde van 15% voorspellend te zijn voor PFS voordeel, maar of dit stand houdt in toekomstige studies en of dit de test-retest variabiliteit overstijgt blijft speculatief op dit moment.

Onafhankelijk van de verandering in tumor diameter hadden patiënten met een afname in tumor glucose metabolisme van 20% of meer na drie weken een PFS voordeel (9,7 vs. 2,8 maanden voor patiënten zonder afname in glucose metabolisme).

Concluderend hebben we in deze dissertatie laten zien dat PET biomarkers voor tumor glucose metabolisme, proliferatie en doorbloeding reproduceerbaar zijn.  $K^{\text{trans}}$  heterogeniteit (gemeten met MRI) en tumoorbloeding en glucose metabolisme (gemeten met PET) konden worden gekwalificeerd als surrogaat eindpunt biomarkers voor gecombineerde VEGF en EGFR behandeling in patiënten met niet-kleincellig longkanker.

## TOEKOMST

Momenteel worden veel studies verricht met nieuwe medicijnen in ongeselecteerde patiëntgroepen waarbij enkel wordt gekeken naar het tumortype en niet naar het tumorprofiel. Deze strategie benadeelt patiënten door hen op individueel niveau de beste therapie te onthouden. Vaak geeft de behandeling gemiddeld voor de hele groep een klein overlevingsvoordeel, maar is de spreiding op individueel gebied groot. Er zijn patiënten die enkel bijwerkingen ondervinden terwijl anderen er juist veel baat van hebben.

---

Doordat biomarkers in staat zijn een schifting te maken tussen deze groepen kunnen zij van groot belang zijn bij de ontwikkeling van medicijnen en de behandeling van patiënten. Reeds in een vroeg stadium van medicijnontwikkeling (tijdens cel- en dierproeven) kunnen zij aantonen of een medicijn in staat is het tumorprofiel te veranderen. In kleine klinische studies kan het biomarker resultaat worden gerelateerd aan een overlevingsvoordeel. Hierdoor kan de ontwikkeling van niet of onvoldoende werkzame medicijnen al in een vroeg stadium worden gestaakt zodat de ontwikkelingskosten kunnen worden beperkt en zo min mogelijk patiënten worden blootgesteld aan niet of onvoldoende werkzame medicijnen.

In dit proefschrift hebben we PET en MRI parameters gevalideerd als surrogaat eindpunt biomarkers die correleren met de progressie-vrije overleving. Deze biomarkers correleerden beter met de PFS dan de huidige standaard, CT. De PET of MRI uitslag werd echter niet gebruikt om de behandeling wel of niet te continueren. De beslissing hiervoor werd genomen op basis van de CT scan uitslag. Omdat veel patiënten na drie weken nog een stabiele tumor diameter hebben, kan op basis van het CT resultaat hierover geen goede beslissing worden genomen. Daarom zijn nieuwe studies nodig die PET of MRI gebruiken ter evaluatie van het wel of niet continueren van behandeling, zodat duidelijk wordt of het gebruik van deze biomarkers leidt tot een betere behandeling van patiënten, resulterend in een langere overleving en minder bijwerkingen. Daarnaast zijn er veel nieuwe beeldvormende onderzoeken in ontwikkeling die momenteel getest worden op hun voorspellende waarde. Het is de hoop dat dit onderzoek leidt tot een betere behandeling van toekomstige patiënten.



