

**REF** 7900001  
16 Testkit



**Circulating Tumor Cell-kit  
(Epitel)**

IVD



## TILTENKT BRUK

### For *in vitro* diagnostisk bruk.

CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell-kit er ment for opptelling av tumorceller (circulating tumor cells - CTC) av epitel-opphav i sirkulasjonen (CD45-, EpCAM+, og cytokeratiner 8, 18+ og/eller 19+) i fullblod.

Forekomst av CTC i perifert blod, detektert av CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell-kit, er forbundet med redusert progresjonsfri overlevelse og redusert generell overlevelse i pasienter behandlet for metastatisk bryst-, kolorektal- eller prostatakreft\*. Testen skal brukes som et hjelpemiddel til overvåkning av pasienter med metastatisk bryst-, kolorektal- eller prostatakreft. Serietesting for CTC skal brukes sammen med andre kliniske metoder for overvåkning av metastatisk bryst-, kolorektal- og prostatakreft. Evaluering av CTC til enhver tid under sykdomsforløpet gir mulighet til å vurdere pasientens prognose og kan forutse progresjonsfri overlevelse og generell overlevelse.

*\*Metastatisk prostatakreft-pasienter i denne studien ble definert å ha to etterfølgende økninger i serummarkøren PSA over et referansenivå, til tross for standard hormonell behandling. Disse pasientene beskrives vanligvis som å ha androgen-uavhengig, hormon-resistent eller kastrasjonsresistent prostatakreft.*

## SAMMENDRAG OG FORKLARING

Kreftmetastase opptrer når celler skilles av fra en primær eller metastatisk tumor, kommer inn i sirkulasjonen og starter vekst på andre lokasjoner i kroppen. Karsinomer stammer fra epitelceller som ikke normalt finnes i sirkulasjonen.<sup>1</sup> Systemet CELLTRACKS® AUTOPREP® ble utviklet for å standardisere og automatisere prøveprepareringsprotokollen for bruk med CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell-kit (CELLSEARCH® CTC-kit). Analyse og opptelling av CTC-er utføres ved å bruke CELLTRACKS ANALYZER II®, som er et halvautomatisert fluorescensmikroskop. Analysen teller kun opp de cellene som uttrykker Epitelcelle-adhesjonsmolekylet (EpCAM) og cytokeratinene (CK) 8, 18 og/eller 19.

## PRINSIPPER TIL PROSEDYREN

CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell-kit inneholder en ferrovæske-basert innfangingsreagens og immunofluorescente reagenser. Ferrovæskereagensen består av partikler med en magnetisk kjerne omgitt av et polymerisk lag belagt med antistoff rettet mot EpCAM-antigenet for innfangning av CTC. Etter immunomagnetisk innfangning og anriking, tilsettes fluorescente reagenser for identifisering og opptelling av CTC. De fluorescente reagensene inkluderer følgende: anti-CK-fykoerytrin (PE) spesifikk for det intracellulære proteinet cytokeratin (karakteristisk for epitelceller), DAPI, som farger cellekjernen og anti-CD45-allofykocyanin (APC) spesifikk for leukocytter.

Den reagens-/prøveblandingen dispenseres av CELLTRACKS® AUTOPREP® System inn i en kassett som er satt inn i en MAGNEST® kassettholder. Det sterke magnetiske feltet til MAGNEST® kassettholder trekker de magnetisk merkede epitelcellene til overflaten til kassetten. CELLTRACKS ANALYZER II® skanner automatisk hele overflaten til kassetten, innhenter bilder og viser brukeren eventuelle hendelser der det samlokaliseres CK-PE- og DAPI-fluorescens. Bilder blir presentert til brukeren i et galleriformat for endelig klassifisering. En hendelse klassifiseres som en tumorcelle når dens morfologiske egenskaper er i samsvar med det til en tumorcelle den viser fenotype EpCAM+, CK+, DAPI+ og CD45-.

## MATERIALER LEVERT

- Bruksanvisning
- **3,0 mL Anti-EpCAM ferrovæske:** Inneholder en suspensjon av 0,022 % magnetiske partikler konjugert til et monoklonalt antistoff fra mus spesifikt for celleoverflatemarkøren EpCAM som finnes på epitelceller, i en buffer som inneholder 0,03 % bovint serumalbumin (BSA) og 0,05 % ProClin® 300 konserveringsmiddel. (brun hette)
- **3,0 mL fargereagenser:** Inneholder 0,0006 % monoklonale antistoffer fra mus spesifikke for cytokeratiner konjugert til fykoerytrin (PE); 0,0012 % monoklonalt antistoff anti-CD45 fra mus konjugert til allofykocyanin (APC) i en buffer som inneholder 0,5 % BSA og 0,1 % natriumazid. (hvit hette)
- **3,0 mL nukleinsyrefarge:** Inneholder 0,005 % 4', 6-diamidino-2-fenylindol, dihydroklorid (DAPI) og 0,05 % ProClin® 300. (blå hette)
- **3,0 mL innfangingsfremmende reagens:** Inneholder 0,02 % merkevarereagens for kontrollert ferrovæskeaggregering, 0,5 % BSA og 0,1 % natriumazid i buffer. (klar hette)
- **3,0 mL permeabiliseringsreagens:** Inneholder 0,011 % merkevare-permeabiliseringsreagens og 0,1 % natriumazid i buffer. (grønn hette)
- **3,0 mL cellefiksativ:** Inneholder 25 % merkevare-fiksativingsredienser, 0,1 % BSA og 0,1 % natriumazid i buffer. (rød hette)
- **2 x 110 mL flaske fortynningsbuffer:** Inneholder buffer med 0,1 % natriumazid.
- **16 CELLSEARCH® koniske sentrifugerør (15 mL) og koniske rørhetter**
- **16 kassetter og kassettplugger**

## NØDVENDIGE MATERIALER, IKKE MEDLEVERT

- CellSave Preservative Tubes rør (#7900005)
- CELLTRACKS® AUTOPREP®-system (#9541)
- CELLTRACKS ANALYZER II® (#9555)
- CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control-kit (katalog #7900003)
- CELLTRACKS® AUTOPREP® instrumentbuffer (#7901003)
- Sentrifuge med horisontal utsvingsrotor (dvs. svingbøtte) med kapasitet på 800 x g
- Prøverørstater
- Kalibrerte mikro-pipetter og spisser
- Virvelmikser

## ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

1. For *in vitro* diagnostisk bruk.
2. Vennligst les hele innholdet i denne bruksanvisningen før du tester prøver.
3. Forsiktig: Samle kun opp blod i et CellSave preserverende rør. CTC er skjøre og krever preservering for nøyaktig analyse.
4. Forsiktig: Alt personell skal følge universelle forholdsregler og bruke laboratorie-sikkerhetsutstyr (dvs. vernebriller, laboratoriefrakk, hansker).
5. Forsiktig: Mikrobekontaminering av reagenser kan medføre feil resultater og skal unngås.
6. **Advarsel:** Alle biologiske prøver, patroner og andre materialer som kommer i kontakt med prøven(e) regnes som biologiske farer. Håndter som om de kan overføre infeksjon. Behandle og deponer avfall med korrekte forholdsregler og i samsvar med lokale, statlige og føderale bestemmelser. Pipettér aldri med munnen.
7. **Advarsel:** Noen av reagensene inneholder natriumazid som konserveringsmiddel. Hvis svelget, kontakt lege umiddelbart. Oppbevares utilgjengelig for barn. Holdes unna mat og drikke. Bruk egnede verneklær. Kontakt med syrer frigir svært giftig gass. Azidsammensetninger skal spyles med store mengder vann ved deponering for å unngå avsetninger i bly- eller kobberør, hvor det kan oppstå eksplosive tilstander. Fraser for risiko og sikkerhet R22 (Skadelig ved inntak) og S28 (Etter kontakt med hud, vask med store mengder såpe).
8. **Advarsel:** Noen av reagensene inneholder ProClin® 300 som konserveringsmiddel. Symptomer på overeksponering for ProClin® 300 kan omfatte hud- og/eller øyeirritasjon og irritasjon av slimhinner og øvre luftveier.
9. Operatør opplæring er nødvendig for å gjennomføre testprosedyren.

## LAGRING OG HÅNDTERING AV REAGENSEN

- Reagenser leveres klare til bruk. Lagres uåpnet ved 2 til 8 °C.
- Etter åpning skal ikke reagensene i reagenspakken lagres i mer enn 30 dager ved 2 til 8 °C. For lagring **må** åpne reagenser lukkes igjen med de entydig fargede hettene. Bruk fargene som er angitt på reagensbrettetikettene som en veiledning.
- **MERK:** Etter åpning må flasken med fortynningsbuffer, som ikke er en del av reagenspakken, lagres ved romtemperatur i ikke mer enn 30 dager.
- Beskytt reagenser mot varme over 35 °C. Må ikke fryses.
- Bring i romtemperatur (15 til 30 °C) før bruk.
- Inspiser reagenspakken visuelt for riktig plassering av reagensene. Bekreft at hver reagens er på riktig sted ved å matche dens entydig fargede hette med fargene som er angitt på etiketten. Se foto for riktig plassering. Hvis reagensene er galt plassert eller hvis det finnes duplikater av noen av flaskene, må reagenspakken ikke brukes. Varsle Teknisk kundeservice og be om et nytt sett.
- Beskytt reagenser mot eksponering for sollys.
- Når de lagres korrekt er reagensene stabile til utløpsdatoen som er trykket på reagensbeholderen eller kit-boksen. Bruk ikke reagenser med utløpt dato.
- Kit-komponentene er produsert og testet som en master-lot. **Ikke** bland og bruk reagenser fra forskjellige kit om hverandre.



## TESTPROSEDYRE

### Innsamling og preparering av prøver

Innsamling av fullblod i CellSave preserverende rør

1. Trekk initiale prøver for initiering av et behandlingsopplegg. Påfølgende prøver kan trekkes etter start av et behandlingsopplegg, vanligvis ved 3 til 4 ukers intervaller, for å følge opp CTC-nivåer under behandlingen. Hvis pasienten går på doxorubicin-behandling, la det gå minst 7 dager etter administrering av en dose med doxorubicin før det trekkes blod.
2. Samle inn fullblod aseptisk ved venepunktur eller fra en venøsport, kun til et CellSave preserverende rør.
3. Fyll røret til blodstrømmen stopper, for å sikre korrekt forhold mellom prøven og antikoaguleringsmiddel og konserveringsmiddel. Bland umiddelbart ved å vende røret forsiktig åtte ganger. Vending av røret forhindrer koagulering. Utilstrekkelig eller forsinket blanding kan føre til unøyaktige testresultater.
4. Blodprøver kan lagres eller transporteres i CellSave preserverende rør. Vennligst se bruksanvisningen til CellSave preserverende rør for instruksjoner om prosessering, lagring og håndtering. Prøvene må ikke kjøles.

**FORSIKTIG:** Inspiser hver prøve visuelt for koagulering før prosessering på CELLTRACKS® AUTOPREP®-systemet. Koagulererte prøver skal kasseres.

### Prosessering med CELLTRACKS® AUTOPREP®-system

1. Bland blodet i et CellSave preserverende rør og vend det manuelt fem ganger. Fjern deretter gummikorken.
2. Bruk en ny pipette og overfør 7,5 mL blod fra CellSave Preservative Tube til et tilsvarende merket 15 mL CELLSEARCH® konisk sentrifugerør som følger med CELLSEARCH® CTC-kit.
3. Bruk en ny pipette og tilfør 6,5 mL fortynningsbuffer.
4. Sett hetten på CELLSEARCH® konisk sentrifugerør og bland ved å vende det fem ganger.
5. Sentrifuger prøven ved 800 x g i hele 10 minutter med bremsen av. Bruk en svingbøttesentrifuge. Sentrifugeringstiden på 10 minutter omfatter ikke tiden instrumentet bruker på å nå 800 x g. Sett sentrifugebremsen på "av" eller hvis sentrifugen har en funksjon for variabel bremsing, setter du bremsen på den laveste innstillingen. Sentrifuger ved romtemperatur med en sentrifuge som kan kjøre i romtemperatur. Inspiser hvert prøverør visuelt etter prøvesentrifugeringen for separasjon av plasma og røde blodceller.
6. Prosessér på CELLTRACKS® AUTOPREP®-systemet i **løpet av 1 time** etter prøveprepareringen omtalt over. Se Brukerveiledning for CELLTRACKS® AUTOPREP®-systemet for fullstendige instruksjoner.

### Analyse ved bruk av CELLTRACKS ANALYZER II®

CELLTRACKS® AUTOPREP® System dispenserer den behandlede prøven inn i en kassett som er klar for analyse ved bruk av CELLTRACKS ANALYZER II®. Den fylte kassetten i MAGNEST® kassettholder skal las inkuberes i mørket i minst 20 minutter og skal analyseres i løpet av 24 timer. Se brukerhåndboken for CELLTRACKS ANALYZER II® for instruksjoner om prøveanalyse og datagjennomgang.

## KVALITETSKONTROLL

CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control-kit (katalog #7900003) sjekker generell systemytelse, inkludert instrument, reagenser og operatørteknikk. CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control skal kjøres hver dag med pasienttesting eller ved bruk av en ny lot med CELLSEARCH® CTC-kit. Vennligst se bruksanvisningen og forventede verdier for CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control-kit.

## TOLKNING AV RESULTATER

Resultater rapporteres som antall CTC / 7,5 mL med blod.

### Metastatisk brystkreft (MBC)

En CTC-telling på **5** eller mer per 7,5 mL med blod til enhver tid under sykdomsforløpet er assosiert med en dårlig prognose og er predikativ for kortere progresjonsfri overlevelse og generell overlevelse.

### Metastatisk kolorektalkreft (MCRC)

En CTC-telling på **3** eller mer per 7,5 mL med blod til enhver tid under sykdomsforløpet er assosiert med en dårlig prognose og er predikativ for kortere progresjonsfri overlevelse og generell overlevelse.

### Metastatisk prostatakreft (MPC)

En CTC-telling på **5** eller mer per 7,5 mL med blod til enhver tid under sykdomsforløpet er assosiert med en dårlig prognose og er predikativ for kortere progresjonsfri overlevelse og generell overlevelse.

### Forholdsregel

Carryover (overdraging) fra en CTC-telleprøve med **5000 eller mer** CTC-er per 7,5 mL blod kan påvirke de neste prøvene som prosesseres på CELLTRACKS® AUTOPREP®-systemet, inkludert påfølgende batch. Hvis cellene overdras til påfølgende prøver, kan CTC-tellingen til disse prøvene bli feil og vise høyere verdier enn pasientens faktiske CTC-telling. **Se Brukerveiledning for CELLTRACKS® AUTOPREP® for mer informasjon.**

## BEGRENSNINGER

- CELLSEARCH®-resultatene skal brukes i forbindelse med all klinisk informasjon derivert fra diagnostiske tester (dvs. bilder, laborietester), fysisk undersøkelse og komplett medisinsk historie i samsvar med egnede prosedyrer for pasienthåndtering.
- Denne *prognostiske* studien demonstrerer ikke at *noen* gjeldende behandlingslinje er noe mer eller mindre effektiv enn noen andre eller ingen behandling.
- CELLSEARCH®-resultater og resultater fra bilder er ikke ekvivalente ved vurdering av overgangen til pasienter mellom ikke progressiv sykdom og progressiv sykdom.
- Hvis pasienten går på doxorubicin-behandling, la det gå minst 7 dager etter administrering av en behandlingsdose før det trekkes blod. Resultatene av en CELLSEARCH®-test skal tolkes med forsiktighet hvis prøvene er tatt innen 7 dager etter administrering av doxorubicin-behandling.
- CTC som ikke uttrykker EpCAM vil ikke bli detektert med CELLSEARCH®-testen.
- CTC som uttrykker EpCAM, men ikke cytokeratiner 8, 18 og 19, vil ikke bli detektert med CELLSEARCH®-testen.
- Forstyrrende stoffer:  
SK-BR-3-celler tilsatt blodprøver ble eksponert for potensielt forstyrrende stoffer og sammenlignet med ubehandlede kontroller. Toksiske nivåer (5 ganger terapeutisk indeks) til følgende kreftmedisiner, medisiner som ikke er reseptbelagte og andre eksogene stoffer ble testet: cyclofosfamid, Mitomycin C®, Procrit®, biotin, 5-fluorouracil, metotrexat, tamoxifencitrat, paclitaxel, Arimidex®, acetaminofen, acetylsalisylsyre, koffein, dextrometofan, Aredia®, humant anti-mus antistoff (HAMA) type 1, HAMA type 2, Herceptin® og ibuprofen. Ingen signifikante forskjeller i SK-BR-3-celletall ble detektert, noe som indikerer at disse stoffene ikke forstyrrer CELLSEARCH® CTC-kit.

Prøver tilsatt toksiske nivåer med doxorubicin resulterte i avvikende farging av leukocytter som cytokeratin og CD45 dobbeltpositive celler, på grunn av at doxorubicin er en fluorescent sammensetning som er inkorporert i nukleerte celler. Hvis man har sett fargingsmønsteret til alle celler som er CD45-positive og cytokeratin-positive, er det iøynefallende og lett å identifisere av operatøren som en kjent interferens-fargende profil. Hvis det trekkes blod etter den anbefalte utskyllingsperioden på 7 dager etter infusjon med doxorubicin, er det usannsynlig at denne interferensen blir observert i klinisk praksis forutsatt kontrollerte terapeutiske nivåer og hurtig medikamentklaring.

Potensiell interferens fra lipemi ble studert ved tilsetning av Intralipid i prøver med en konsentrasjon på 2,6 %, som korresponderer med mer enn 1000 mg/dL triglyserid. Prøver ble lysert for å simulere total hemolyse. Bilirubin på 7,4 mg/dL, HAMA 1/HAMA 2 og hematocrit fra 18–60 % ble studert. Lipemi, hemolyse, icterus og et bredt utvalg av hematocrit-verdier har ikke noen innvirkning på CELLSEARCH®-testen. HAMA 1 og HAMA 2 har heller ikke noen innvirkning, noe som indikerer at individer som mottar mus-Ig via parenteral rute kan testes med godt resultat med CELLSEARCH®-testen.

## FORVENTETE VERDIER

### *Friske frivillige, ikke-ondartet brystsykdom, ikke ondartet annen sykdom*

Enkelpunkt CTC-analyse ble utført på kontrollgrupper med 145 friske frivillige, 101 kvinner med ikke ondartet brystsykdom og 99 kvinner med annen ikke ondartet sykdom. Epitelceller forventes ikke å finnes i perifert blod til friske individer. Av de totalt 345 prøvene fra friske frivillige og kvinner med ikke-ondartet sykdom, hadde kun én mer enn 5 CTC/7,5 mL. Resultatene er presentert i **tabell 1**.

**Tabell 1. Kontrollpersoner**

| Kategori                   | N   | Middel # CTC | SD  | # Pasienter med $\geq 5$ CTC | Min.* | Maks.* |
|----------------------------|-----|--------------|-----|------------------------------|-------|--------|
| Friske                     | 145 | 0,1          | 0.2 | 0                            | 0     | 1      |
| Ikke-ondartet brystsykdom  | 101 | 0,2          | 1.2 | 1                            | 0     | 12     |
| Ikke-ondartet annen sykdom | 99  | 0,1          | 0.4 | 0                            | 0     | 3      |

\* NCCLS Guideline C28-A2<sup>3</sup>

**Friske frivillige, ikke-ondartet kolorektal sykdom**

Blod ble tatt fra friske menn og kvinner som var 35 år eller eldre. Disse friske frivillige ble innrullert ved tre sentre i USA. I forbindelse med denne studien ble det tatt to rør med blod fra hver person, og begge ble evaluert for CTC-nivåer. Det var totalt 150 personer som kunne evalueres med enten én eller to separate 7,5 mL prøver med blod prosessert for CTC. Ikke alle personene som kunne evalueres hadde CTC-resultater tilgjengelig fra begge rørene. Middelantallet av tumorceller i sirkulasjonen var 0,0 for begge persongruppene, med standardavvik på 0,1 til 0,2. Av de totalt 284 prøvene fra friske frivillige (menn og kvinner), hadde null personer mer enn 3 CTC/7,5 mL. Resultatene er vist i **tabell 2**.

**Tabell 2. Resultater av CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell-analyse på kontrollpersoner**

| Friske<br>Kontroller    | Alle kontroller |         |         | Kun menn |         |         | Kun kvinner |         |         |
|-------------------------|-----------------|---------|---------|----------|---------|---------|-------------|---------|---------|
|                         | Rør 1           | Rør 2   | Totalt  | Rør 1    | Rør 2   | Totalt  | Rør 1       | Rør 2   | Totalt  |
| <b>N</b>                | 149             | 135     | 284     | 68       | 64      | 132     | 81          | 71      | 152     |
| <b>CTC-område</b>       | 0 - 1           | 0 - 1   | 0 - 1   | 0 - 1    | 0 - 1   | 0 - 1   | 0 - 1       | 0 - 1   | 0 - 1   |
| <b>Gjennomsnitt CTC</b> | 0,0             | 0,0     | 0,0     | 0,0      | 0,0     | 0,0     | 0,0         | 0,0     | 0,0     |
| <b>CTC SD</b>           | 0,1             | 0,2     | 0,1     | 0,1      | 0,1     | 0,1     | 0,1         | 0,2     | 0,2     |
| <b>N (%) ≥ 1 CTC</b>    | 2 (1 %)         | 4 (3 %) | 6 (2 %) | 1 (1 %)  | 1 (2 %) | 2 (2 %) | 1 (1 %)     | 3 (4 %) | 4 (3 %) |
| <b>N (%) ≥ 2 CTC</b>    | 0 (0 %)         | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %)  | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %)     | 0 (0 %) | 0 (0 %) |

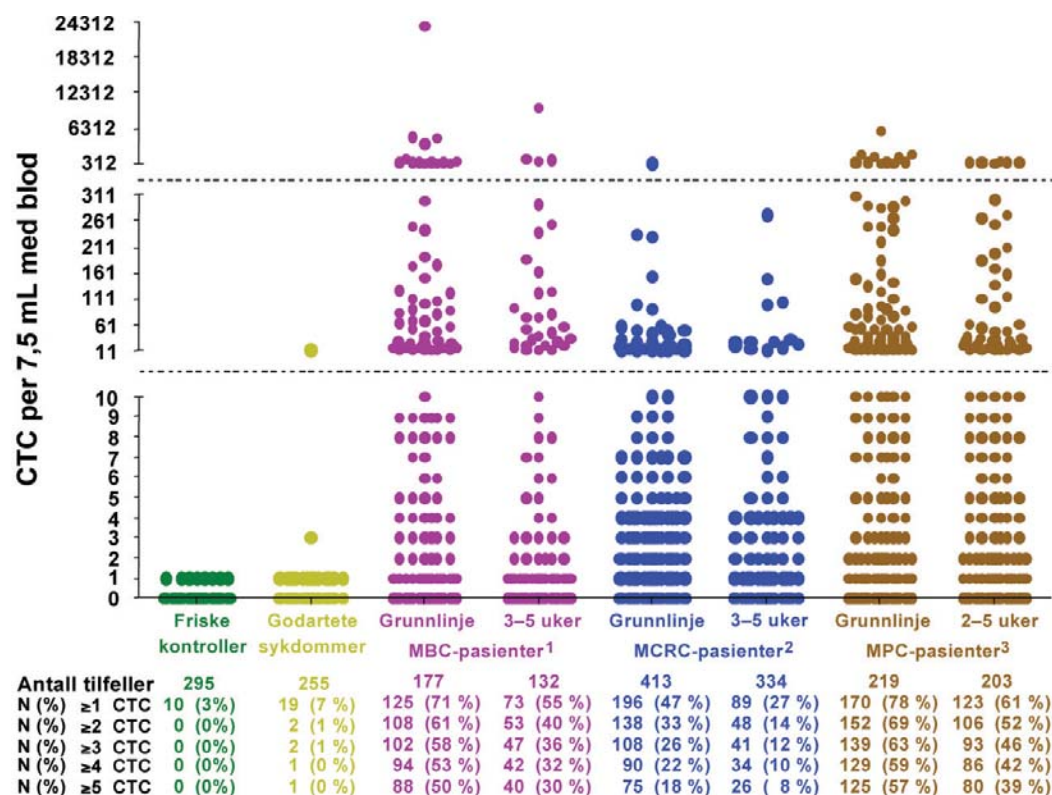
Omtrent tretti mL med blod (for å øke sannsynligheten for å detektere celler) ble samlet inn i fire separate CellSave rør (minimum 7,5 mL per rør) fra pasienter som gjennomgikk kolonoskopi eller kirurgi for godartet sykdom. Opp til fire 7,5 mL blodprøver ble evaluert for hver person før prosedyren. Resultatene vises under i **tabell 3**. Ikke alle personene som kunne evalueres hadde CTC-resultater tilgjengelig fra alle fire rørene. Ingen av pasientene med godartet kolorektal sykdom hadde mer enn én enkelt tumorcelle i sirkulasjonen per 7,5 mL med blod.

**Tabell 3. Resultater av CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell-analyse på personer med godartet kolorektal sykdom**

| Godartet sykdom     | Blod tatt før prosedyren |         |         |         |          |
|---------------------|--------------------------|---------|---------|---------|----------|
|                     | Rør 1                    | Rør 2   | Rør 3   | Rør 4   | Totalt   |
| <b>N</b>            | 55                       | 55      | 53      | 47      | 210      |
| <b>Område</b>       | 0 - 1                    | 0 - 1   | 0 - 1   | 0 - 1   | 0 - 1    |
| <b>Gjennomsnitt</b> | 0,1                      | 0,0     | 0,0     | 0,1     | 0,0      |
| <b>SD</b>           | 0,2                      | 0,1     | 0,2     | 0,3     | 0,2      |
| <b>% ≥ 1 CTC</b>    | 3 (5 %)                  | 1 (2 %) | 2 (4 %) | 4 (9 %) | 10 (5 %) |
| <b>% ≥ 2 CTC</b>    | 0 (0 %)                  | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %)  |

**Figur 1** viser frekvensen til CTC i den kombinerte gruppen med friske og godartet syke personer (kontroller), og i MBC-, MCRC- og MPC-pasienter før initiering av behandling og omtrent en måned etter initiering av behandling.

Figur 1. Frekvens av CTC i kontroller (personer uten kreft) og pasienter med metastatisk bryst<sup>1</sup> (MBC), metastatisk kolorektal<sup>2</sup> (MCRC) eller metastatisk prostatakreft<sup>3</sup> (MPC) før initiering av en ny behandlingslinje (grunnlinje) og ~2–5 uker etter initiering av behandling.



<sup>1</sup> MBC referansepopulasjon, informasjon – Tabell 1 i den kliniske IFU-en.

<sup>2</sup> MCRC referansepopulasjon, informasjon – Tabell 12 i den kliniske IFU-en.

<sup>3</sup> MPC referansepopulasjon, informasjon – Tabell 22 i den kliniske IFU-en.

## YTELSEKARAKTERISTIKKER

### Gjenoppretting

Blodprøver fra en enkelt frisk donor ble samlet og fem av seks 7,5 mL prøver ble tilsatt omtrent 1300, 325, 81, 20 og 5 kultiverte brystkreftceller (SK-BR-3). Det sjette røret var samlet blod uten tilsetning og ble brukt som nullpunkt. Disse prøvene ble prosessert på CELLTRACKS® AUTOPREP®-systemet med CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell-kit og CTC-tellinger ble bestemt på CELLTRACKS ANALYZER II®. Eksperimentet ble gjentatt for fire ytterligere donorer. De observerte celletellingene ble plottet mot resultatene av den forventete celletellingen. Du finner et sammendrag av resultatene i **tabell 4**.

Tabell 4. Prosent deteksjon estimer.

| Forventet tumorcelletelling | Middel observert tumorcelletelling | Område for prosent gjenvinning |
|-----------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| 1300                        | 1215                               | 91 to 95 %                     |
| 325                         | 308                                | 82 to 101 %                    |
| 81                          | 85                                 | 80 to 136 %                    |
| 20                          | 22                                 | 95 to 140 %                    |
| 5                           | 7                                  | 120 to 200 %                   |

For å bestemme den totale, eller tilpasning til minste kvadrat, for sammenligning av de observerte og forventete celletellingene over alle data, ble det utført lineær regresjonsanalyse. Regresjonsligningen for disse 30 prøvene var  $Y = 0,93x + 3,87$  med en  $R^2 = 0,999$  ( $R = 0,999$ ). Resultatene av denne studien indikerer at i gjennomsnitt, over det testete CTC-område, er gjenvinningen 93 %, ut fra regresjonsanalysen.

Gitt den lineære responsen til tumorcelletellingene, kan man forvente at helningen til observert i forhold til forventet plot å være 1,0. Likevel var helningen 0,93. Dette er fordi CELLTRACKS® AUTOPREP®-systemet med CELLSEARCH® CTC-kit involverer innfangning og fluorescent merking av celler etterfulgt av detektering og opptelling med CELLTRACKS ANALYZER II®. Tapet av celler kan derfor tilskrives en av følgende muligheter; 1) gjenvinning av kun 93 % av tumorcellene tilsatt i 7,5 mL med blod av CELLTRACKS® AUTOPREP®-system, 2) detekteringen av kun 93 % av tumorcellene som finnes i prøvekompartimentet til CELLTRACKS ANALYZER II® eller 3) en kombinasjon av begge disse feilkildene.



### Linearitet / rapporterbart område

En annen måte å undersøke de foregående dataene er å analysere de som en fortynningsserie for å evaluere testlineariteten. Vi fjernet den trunkerende variabelen for prosent gjenvinning ved å bruke den observerte verdien av den initiale prøven i fortynningsserien (dvs. det første røret) dividert med fortynningsfaktorene for å bestemme de forventede verdiene for fortynningsserien for hver pasientprøve. Regresjon av alle disse antallene med observerte tumorceller i forhold til antallet forventede tumorceller ga en helning på 1,007, en skjæring på 3,0 og en  $R^2 = 0,990$  ( $R = 0,995$ ). Derfor, straks prosent gjenvinning (celletap) ble faktorisert ut av CTC-verdiene til hvert av de initiale prøvene, viste analysen av dataene at deteksjonen av CTC var lineært over det rapporterte området på 0 til 1238 tumorceller.

### Grenser for detektering

En CTC per 7,5 mL kan detekteres med CELLTRACKS ANALYZER II®, noe som resulterer i en grense for detektering på 1 CTC i en kassett. Lineær regresjon viser at i gjennomsnitt gjenvinnes 93 % av CTC som finnes i en 7,5 mL blodprøve ved bruk av CELLTRACKS® AUTOPREP®-system (se avsnittet **Gjenvinning**). Tapet på omtrent 7 % av CTC i prøven er ikke tilstrekkelig til å redusere grensen for detektering på 1 CTC.

### Reproduserbarhet:

#### a. System-reproduserbarhet med CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control

Tre separate CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control-prøver ble preparert og prosessert hver dag i over 30 dager, med metoden "long run" i NCCLS retningslinje EP5-A2. Hver engangs prøveflaske inneholder en lav og en høy konsentrasjon av celler fra en fast cellelinje som er blitt forhåndsfarget med to forskjellige fluorokromer. Sammendrag av statistikk for de høye og lave kontrollcellene er presentert under.

**Tabell 5. Sammendrag av presisjonsanalyser**

|                                                           | Lav  | Høy |
|-----------------------------------------------------------|------|-----|
| <b>N</b>                                                  | 99   | 99  |
| <b>Middels celledetelling</b>                             | 48   | 969 |
| <b>Total presisjon standardavvik (S<sub>T</sub>) % CV</b> | 18 % | 5 % |

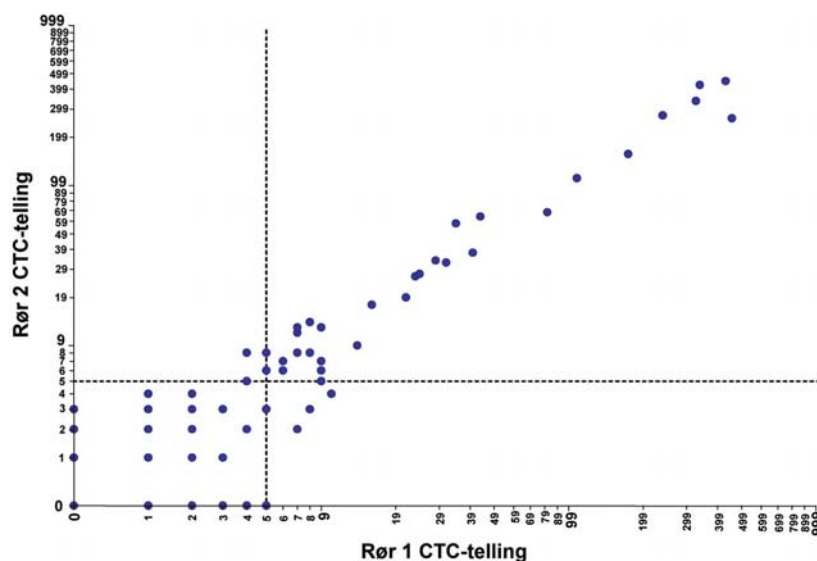
#### b. Systemreproduserbarhet med pasientprøver

##### Metastatisk brystkreft (MBC)

Totalt 163 duplikate blodprøver ble innsamlet fra 47 metastatiske brystkreftpasienter gjennom den kliniske studien. Disse prøvene ble prosessert på flere steder for å bestemme reproduserbarheten til CTC-målingene.

Regresjonsligningen for sammenligning av disse 163 duplikate prøver var  $Y = 0,98x + 0,67$ ,  $R^2 = 0,99$ . **Figur 2** viser et spredningsplott over de duplikate CTC-resultater i blod fra MBC-pasienter plottet på en logaritmisk skala, med terskelen på 5 CTC indikert med stiplede linjer.

**Figur 2. Reproduserbarhet til CTC-tellinger i duplikate MBC-prøver (n=163) med gjennomsnitt på <5 eller ≥5 CTC per 7,5 mL med blod.**



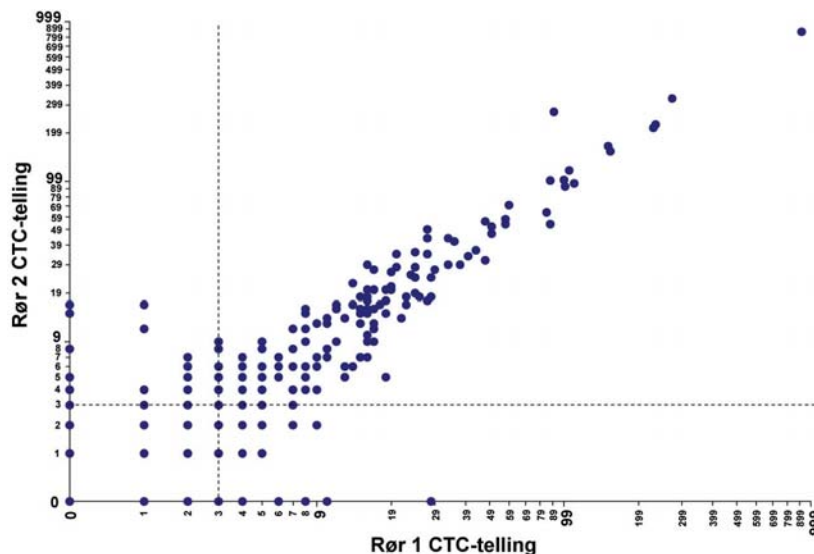
*Figur 2 merknad: Det kan være mer enn ett punkt avsatt over et annet. For eksempel, på dette plottet er det 50 tilfeller (31 %) hvor begge rørene hadde 0 CTC, 18 tilfeller (11 %) hvor rør 1 hadde 0 CTC og rør 2 hadde 1 CTC, og ytterligere 18 tilfeller (11 %) hvor rør 1 hadde 1 CTC og rør 2 hadde 0 CTC.*



### Metastatisk kolorektalkreft (MCRC)

Totalt ble 1627 duplikate blodprøver innsamlet fra 430 MCRC-pasienter gjennom den kliniske studien. Disse prøvene ble prosessert på flere steder for å bestemme reproduserbarheten til CTC-målingene. Regresjonsligningen for sammenligning av disse 1627 duplikate prøver var  $Y = 0,98x + 0,18$ ,  $R^2 = 0,96$ . **Figur 3** viser et spredningsplott over de duplikate CTC-resultater i blod fra MCRC-pasienter plottet på en logaritmisk skala, med terskelen på 3 CTC indikert med stiplede linjer.

**Figur 3. Reproduserbarhet til CTC-tellinger i duplikate MCRC-prøver (n=1627) med gjennomsnitt på <3 eller ≥3 CTC per 7,5 mL med blod.**



*Figur 3 merknad: Det kan være mer enn ett punkt avsatt over et annet. For eksempel, på dette plottet er det 975 tilfeller (60 %) hvor begge rørene hadde 0 CTC, 116 tilfeller (7 %) hvor rør 1 hadde 0 CTC og rør 2 hadde 1 CTC, og ytterligere 109 tilfeller (7 %) hvor rør 1 hadde 1 CTC og rør 2 hadde 0 CTC.*

Variasjonen i CTC-telling fra rør til rør i blodprøver fra metastatisk bryst- og kolorektalkreftpasienter er vist i **figur 2 og 3**. Fordelingen av sjeldne hendelser (som tumorceller) innenfor et gitt volum er tilfeldig og uavhengig av celle- eller sykdomstype. Dette karakteriseres best av Poisson-fordelingen – en matematisk metode brukt til modelleringssystemer hvor sannsynligheten for at en hendelse inntreffer er svært lav, men antallet muligheter for at en slik hendelse inntreffer er stor.<sup>5</sup> For rør med svært få prostata-CTC er det rimelig å forvente variasjon i resultater lik den som er vist i **figur 2 og 3**. Siden de to tidligere studiene av MBC- og MCRC-pasienter viste nesten identiske resultater, ble ikke en sammenligning fra rør til rør med CTC-tellinger i blodprøver fra metastatisk prostatakreftpasienter utført under klinisk test av CELLSEARCH® CTC-prostata. Likevel demonstrerte resultater av en uavhengig studie ved bruk CELLSEARCH®-teknologien gjennomført ved Memorial Sloan-Kettering Cancer Center ingen systematisk variasjon fra sted til sted eller rør til rør i CTC-tellinger over en serie på 0 til 1192 CTC per rør i pasienter med metastatisk prostatakreft.<sup>4</sup>

### BIBLIOGRAFI

1. Cancer Biology, 3rd edition, Ray Rudden 1995
2. NCCLS Approved Guideline EP5-A, "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices".
3. NCCLS Approved Guideline C28-A2, "How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory".
4. Shaffer DR, Leversha MA, Danila DC, Lin O, Gonzalez-Espinoza R, Gu B, Anand A, Smith K, Maslak, P, Doyle GV, Terstappen LWMM, Lilja H, Heller G, Fleisher M and Scher HI. "Circulating Tumor Cell Analysis in Patients with Progressive Castration-Resistant Prostate Cancer", Clinical Cancer Research, Vol 13 No.7: 2023-2029, (2007).
5. Tibbe A.G.J, Miller C.M and Terstappen LWMM "Statistical Considerations for Enumeration of Circulating Tumor Cells", Cytometry Part A 71a:154-162 (2007).

**REF** 7900001  
16 Test Kit



**Circulating Tumor Cell-kit  
(Epitel)**

**RESULTATER FRA KLINISKE TESTER**

## Innholdsfortegnelse

|                                                                                         |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 Metastatisk brystkreft (MBC) -pasienter .....</b>                                  | <b>5</b>  |
| 1.1 CTC-frekvenser .....                                                                | 5         |
| 1.2 Analyse av progresjonsfri overlevelse (PFS) for MBC-pasienter .....                 | 6         |
| 1.2.1 PFS ved bruk av grunnlinje CTC-resultater .....                                   | 6         |
| 1.2.2 PFS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater .....                                | 6         |
| 1.2.3 Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert PFS .....               | 7         |
| 1.3 Analyse av generell overlevelse (OS) hos MBC-pasienter .....                        | 8         |
| 1.3.1 OS-analyse ved bruk av grunnlinje CTC-resultater .....                            | 8         |
| 1.3.2 OS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater .....                                 | 9         |
| 1.3.3 Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert OS .....                | 9         |
| 1.3.4 Univariate Cox regresjonsanalyse hos MBC-pasienter .....                          | 10        |
| 1.3.5 Multivariate Cox regresjonsanalyse hos MBC-pasienter .....                        | 11        |
| 1.4 Bruk av CTC til overvåkning av klinisk status til metastatisk brystkreft .....      | 12        |
| 1.4.1 Forhold mellom overlevelse, CTC og sykdomsvurdering med bildeteknikker .....      | 12        |
| 1.4.2 CTC .....                                                                         | 12        |
| 1.4.3 Bildeteknikk .....                                                                | 12        |
| 1.4.4 Forholdet mellom overlevelse ihht. bildeteknikk og CTC .....                      | 13        |
| 1.4.5 Konkordanser mellom CTC og radiologisk overvåkning .....                          | 15        |
| 1.4.6 CTC som et supplement til bildeteknikk .....                                      | 17        |
| 1.5 Variabilitet av CTC- og radiologiske vurderinger .....                              | 18        |
| 1.5.1 CTC .....                                                                         | 18        |
| 1.5.2 Bildeteknikk .....                                                                | 18        |
| <b>2 Pasienter med metastatisk kolorektalkreft (MCRC) .....</b>                         | <b>18</b> |
| 2.1 CTC-frekvenser .....                                                                | 19        |
| 2.2 Analyse av progresjonsfri overlevelse (PFS) hos MCRC-pasienter .....                | 20        |
| 2.2.1 PFS ved bruk av grunnlinje CTC-resultater .....                                   | 20        |
| 2.2.2 PFS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater .....                                | 20        |
| 2.2.3 Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert PFS .....               | 21        |
| 2.3 Analyse av generell overlevelse (OS) hos MCRC-pasienter .....                       | 22        |
| 2.3.1 OS-analyse ved bruk av grunnlinje CTC-resultater .....                            | 22        |
| 2.3.2 OS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater .....                                 | 23        |
| 2.3.3 Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert OS .....                | 23        |
| 2.3.4 Univariate Cox regresjonsanalyse hos MCRC-pasienter .....                         | 24        |
| 2.3.5 Multivariate Cox regresjonsanalyse hos MCRC-pasienter .....                       | 25        |
| 2.4 Bruk av CTC til overvåkning av klinisk status til metastatisk kolorektalkreft ..... | 26        |
| 2.4.1 Forhold mellom overlevelse, CTC og sykdomsvurdering med bildeteknikker .....      | 26        |
| 2.4.2 CTC .....                                                                         | 27        |
| 2.4.3 Bildeteknikk .....                                                                | 27        |
| 2.4.4 Forholdet mellom overlevelse ihht. bildeteknikk og CTC .....                      | 27        |
| 2.4.5 Konkordanser mellom CTC og radiologisk overvåkning hos MCRC pasienter .....       | 29        |
| 2.4.6 CTC som et supplement til bildeteknikk .....                                      | 30        |
| <b>3 Pasienter med metastatisk prostatakreft (MPC) .....</b>                            | <b>31</b> |
| 3.1 CTC-frekvenser .....                                                                | 32        |
| 3.2 Analyse av progresjonsfri overlevelse (PFS) hos MPC-pasienter .....                 | 33        |
| 3.2.1 PFS ved bruk av grunnlinje CTC-resultater .....                                   | 33        |
| 3.2.2 PFS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater .....                                | 34        |
| 3.2.3 Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert PFS .....               | 34        |

|       |                                                                                                |    |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.3   | Analyse av generell overlevelse (OS) hos MPC-pasienter.....                                    | 35 |
| 3.3.1 | OS-analyse ved bruk av grunnlinje CTC-resultater .....                                         | 35 |
| 3.3.2 | OS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater.....                                               | 36 |
| 3.3.3 | Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert OS.....                              | 37 |
| 3.3.4 | Univariate Cox regresjonsanalyse hos MPC-pasienter .....                                       | 38 |
| 3.3.5 | Multivariate Cox regresjonsanalyse hos MPC-pasienter.....                                      | 39 |
| 3.4   | Bruk av CTC til overvåkning av klinisk status hos pasienter med metastatisk prostatakreft..... | 41 |
| 3.4.1 | Forhold mellom overlevelse, CTC-er og sykdomsvurdering med PSA .....                           | 41 |
| 3.4.2 | Konkordanser mellom endringer i CTC og PSA hos MPC-pasienter.....                              | 42 |
| 3.4.3 | CTC-nivåer og PSA-reduksjon kombinert for å forutsi OS hos MPC-pasienter .....                 | 44 |

#### List of Tables

|            |                                                                                                                                                        |    |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabell 1:  | MBC-pasientdemografi.....                                                                                                                              | 5  |
| Tabell 2:  | Progresjonsfri overlevelse (PFS) for MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC på forskjellige tidspunkter .....                                               | 7  |
| Tabell 3:  | Generell overlevelse (OS) for MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC på forskjellige tidspunkter .....                                                      | 9  |
| Tabell 4:  | Univariate Cox regresjonsanalyse hos MBC-pasienter .....                                                                                               | 11 |
| Tabell 5:  | Multivariate Cox regresjonsanalyse av progresjonsfri overlevelse hos MBC-pasienter .....                                                               | 11 |
| Tabell 6:  | Multivariate Cox regresjonsanalyse av generell overlevelse hos MBC-pasienter.....                                                                      | 12 |
| Tabell 7:  | OS hos MBC-pasienter med CTC-vurdering omtrent én måned etter initiering<br>av behandling og innenfor én måned for den radiologiske vurderingen .....  | 14 |
| Tabell 8:  | MBC pasientvis sammenligning av CTC og bildeteknikk .....                                                                                              | 16 |
| Tabell 9:  | MBC observasjonsvis sammenligning av CTC og bildeteknikk.....                                                                                          | 16 |
| Tabell 10: | MBC pasientvis sammenligning av CTC og bildeteknikk .....                                                                                              | 17 |
| Tabell 11: | Variabilitet til radiologisk og CTC-vurderinger hos MBC-pasienter .....                                                                                | 18 |
| Tabell 12: | MCRC-pasientdemografi.....                                                                                                                             | 19 |
| Tabell 13: | Eksklusjoner fra analyser av progresjonsfrihet og generell overlevelse hos MCRC-pasienter .....                                                        | 19 |
| Tabell 14: | Progresjonsfri overlevelse (PFS) hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3<br>CTC på forskjellige tidspunkter.....                                            | 21 |
| Tabell 15: | Generell overlevelse (OS) hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC<br>på forskjellige tidspunkter .....                                                  | 23 |
| Tabell 16: | Univariate Cox regresjonsanalyse hos MCRC-pasienter.....                                                                                               | 25 |
| Tabell 17: | Multivariate Cox regresjonsanalyse hos MCRC-pasienter.....                                                                                             | 26 |
| Tabell 18: | OS hos MCRC-pasienter med CTC-vurdering omtrent én måned etter initiering<br>av behandling og innenfor én måned for den radiologiske vurderingen ..... | 28 |
| Tabell 19: | MCRC pasientvis sammenligning av CTC og bildeteknikk .....                                                                                             | 29 |
| Tabell 20: | MCRC observasjonsvis sammenligning av CTC og bildeteknikk .....                                                                                        | 30 |
| Tabell 21: | MCRC pasientvis sammenligning av CTC og bildeteknikk .....                                                                                             | 30 |
| Tabell 22: | MPC-pasientdemografi .....                                                                                                                             | 32 |
| Tabell 23: | Eksklusjoner fra PFS- og OS-analyser hos MPC-pasienter.....                                                                                            | 33 |
| Tabell 24: | Progresjonsfri overlevelse (PFS) hos MPC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC<br>på forskjellige tidspunkter .....                                            | 34 |
| Tabell 25: | Generell overlevelse (OS) hos MPC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC på forskjellige tidspunkter .....                                                      | 37 |
| Tabell 26: | Univariate Cox regresjonsanalyse hos MPC-pasienter .....                                                                                               | 39 |
| Tabell 27: | Multivariate Cox regresjonsanalyse hos MPC-pasienter .....                                                                                             | 40 |
| Tabell 28: | Sammenligning av median OS mellom gunstige og ugunstige grupper for CTC og PSA-reduksjon. ....                                                         | 42 |
| Tabell 29: | MPC pasientvis sammenligning av CTC og 30 % PSA-reduksjon ved 2–5 uker .....                                                                           | 43 |
| Tabell 30: | MPC pasientvis sammenligning av CTC og 30 % PSA-reduksjon ved 13–20 uker .....                                                                         | 43 |
| Tabell 31: | MPC observasjonsvis sammenligning av CTC og 30 % PSA-reduksjon.....                                                                                    | 43 |

## Liste over figurer

|                                                                                                                                                                                                                          |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Figur 1: PFS hos MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved grunnlinje (N=177).....                                                                                                                                           | 6     |
| Figur 2: PFS hos MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved forskjellige tider for oppfølging .....                                                                                                                           | 7     |
| Figur 3: En reduksjon i CTC til under 5 etter initiering av behandlingen forutsier lengre PFS<br>hos MBC-pasienter.....                                                                                                  | 8     |
| Figur 4: OS til MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved grunnlinje (N=177).....                                                                                                                                            | 8     |
| Figur 5: OS hos MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved forskjellige tider for oppfølging.....                                                                                                                             | 9     |
| Figur 6: En reduksjon i CTC til under 5 etter initieringen av behandlingen, forutsier lengre OS, mens<br>en økning i CTC-tellingen til 5 eller høyere forutsier kortere OS hos MBC-pasienter.....                        | 10    |
| Figur 7: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MBC-pasienter<br>med NPD eller PD ved 1. oppfølgings-bildeteknikkstudie (N=138) .....                                                               | 14    |
| Figur 8: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MBC-pasienter<br>med <5 eller ≥5 CTC ved første oppfølging etter initiering av behandling (N=138) .....                                             | 15    |
| Figur 9: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MBC-pasienter<br>med <5 eller ≥5 CTC i løpet av ±1 måned til 1. oppfølgings-bildeteknikkstudie (N=138).....                                         | 15    |
| Figur 10: OS hos MBC-pasienter i gruppene 1, 2, 3 og 4 ved bruk av 1. oppfølging av<br>CTC-vurdering etter initiering av behandlingen (n=138) og sykdomsstatus bestemt ved 1.<br>oppfølging med bildeteknikkstudie ..... | 17    |
| Figur 11: PFS hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC ved grunnlinje (N=413).....                                                                                                                                         | 20    |
| Figur 12: PFS hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC ved forskjellige tider for oppfølging .....                                                                                                                         | 21    |
| Figur 13: En reduksjon i CTC til under 3 etter initiering av behandlingen<br>forutsier lengre PFS hos MCRC-pasienter .....                                                                                               | 22    |
| Figur 14: OS hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC ved grunnlinje (N=413). .....                                                                                                                                        | 22    |
| Figur 15: OS hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC ved forskjellige tider for oppfølging.....                                                                                                                           | 23    |
| Figur 16: En reduksjon i CTC til under 3 etter initieringen av behandlingen forutsier lengre OS, mens<br>en økning i CTC-tellingen til 3 eller høyere forutsier kortere OS hos MCRC-pasienter. ....                      | 24    |
| Figur 17: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MCRC-pasienter<br>med NPD eller PD ved 1. oppfølgings-bildeteknikkstudie (N=402) .....                                                             | 28    |
| Figur 18: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MCRC-pasienter<br>med <3 eller ≥3 CTC ved 1. oppfølging etter initiering av behandling (N=320).....                                                | 28    |
| Figur 19: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MCRC-pasienter<br>med <3 eller ≥3 CTC i løpet av ±1 måned av 1. oppfølgings-bildeteknikkstudie eller død (N=364) .....                             | 29    |
| Figur 20: OS hos MCRC-pasienter i gruppene 1, 2, 3 og 4 ved bruk CTC 3–5 uker etter<br>initiering av behandlingen (n=320) og sykdomsstatus bestemt ved 1. oppfølging<br>med bildeteknikkstudie .....                     | 31    |
| Figur 21: PFS hos MPC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved grunnlinje (N=219). .....                                                                                                                                        | 33    |
| Figur 22: PFS hos MPC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved forskjellige tider for oppfølging.....                                                                                                                           | 34    |
| Figur 23: En reduksjon i CTC under 5 etter initiering av behandlingen forutsier lengre<br>PFS hos MPC-pasienter.....                                                                                                     | 35    |
| Figur 24: OS hos MPC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved grunnlinje (N = 219).....                                                                                                                                         | 36    |
| Figur 25: OS hos MPC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved forskjellige tider for oppfølging. ....                                                                                                                           | 36    |
| Figur 26: En reduksjon i CTC til under 5 etter initieringen av behandlingen forutsier lengre OS, mens<br>en økning i CTC-tellingen til 5 eller høyere forutsier kortere OS hos MPC-pasienter. ....                       | 37    |
| Figur 27: OS hos MPC-pasienter 2–5 uker etter initiering av behandlingen .....                                                                                                                                           | 41    |
| Figur 28: OS hos MPC-pasienter 6–8 uker etter initiering av behandlingen .....                                                                                                                                           | 41    |
| Figur 29: OS hos MPC-pasienter 9–12 uker etter initiering av behandlingen .....                                                                                                                                          | 42    |
| Figur 30: OS hos MPC-pasienter 13–20 uker etter initiering av behandlingen .....                                                                                                                                         | 42    |
| Figur 31: CTC-nivåer og PSA-enderinger kombinert for å forutsi OS 2–5 uker (panel A), 6–8 uker<br>(panel B), 9–12 uker (panel C) og 13–20 uker (panel D) etter initiering av behandlingen .....                          | 44-45 |

## 1 Metastatisk brystkreft (MBC) -pasienter

En prospektiv klinisk test ved flere sentre ble gjennomført for å bestemme om antallet CTC forutsier sykdomsprogresjon og overlevelse. Pasienter med metastatisk brystkreft med målbar sykdom (N=177) som starter en ny behandlingslinje ble tatt inn. Kliniske data ble analysert ut fra hensikt om behandling. Pasientdemografiinformasjon er presentert i **Tabell 1**.

**Tabell 1: MBC-pasientdemografi**

| Kategori              |                               | N=177 pasienter              |
|-----------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Alder ved grunnlinje  | Middel ± std. avvik<br>Median | 58 ± 13<br>58                |
|                       | Beskrivelse av kategorier     | Antall personer (% av total) |
| Trinn                 | 1                             | 26 (15%)                     |
|                       | 2                             | 92 (52%)                     |
|                       | 3                             | 26 (15%)                     |
|                       | 4                             | 20 (11%)                     |
|                       | Ukjent                        | 13 ( 7%)                     |
| Rase                  | Hvit                          | 153 (86%)                    |
|                       | Sort                          | 14 ( 8%)                     |
|                       | Latinsk                       | 7 ( 4%)                      |
|                       | Ukjent                        | 3 ( 2%)                      |
| Grunnlinje ECOG-score | 0                             | 82 (46%)                     |
|                       | 1                             | 72 (41%)                     |
|                       | 2                             | 18 (10%)                     |
|                       | Ukjent                        | 5 ( 3%)                      |
| Sykdomssted           | Innvoller                     | 152 (86%)                    |
|                       | Bein                          | 153 (86%)                    |
| ER/PR                 | +                             | 121 (68%)                    |
|                       | -                             | 54 (31%)                     |
|                       | Ukjent                        | 2 ( 1%)                      |
| HER2                  | 0                             | 91 (51%)                     |
|                       | 1+                            | 12 ( 7%)                     |
|                       | 2+                            | 18 (10%)                     |
|                       | 3+                            | 27 (15%)                     |
|                       | Ukjent                        | 29 (17%)                     |
| Behandlingslinje      | 1.-linje                      | 82 (46%)                     |
|                       | 2.-linje                      | 26 (15%)                     |
|                       | ≥ 3.-linje                    | 67 (38%)                     |
|                       | Ukjent                        | 2 ( 1%)                      |
| Behandlingstype       | Kjemo (Ch)                    | 74 (42%)                     |
|                       | Endokrin (En)                 | 45 (25%)                     |
|                       | Målrettet (Ta)                | 9 ( 5%)                      |
|                       | Ch/En                         | 10 ( 6%)                     |
|                       | Ch/Ta                         | 23 (13%)                     |
|                       | En/Ta                         | 7 ( 4%)                      |
|                       | Ch/En/Ta                      | 2 ( 1%)                      |
|                       | Forskjellig                   | 2 ( 1%)                      |
|                       | Ukjent                        | 5 ( 3%)                      |

Grunnlinje CTC-telling ble bestemt før initiering av en ny behandlingslinje. Oppfølgings-CTC-tellinger ble bestemt etter initiering av behandlingen ved omtrent 3 til 4 ukers intervaller. For grunnlinjeanalysen ble progresjonsfri overlevelse (PFS) målt fra tiden for grunnlinje-blodprøve til progresjonsdiagnose ved CT-skanninger og/eller kliniske tegn og symptomer, og generell overlevelse (OS) ble målt fra grunnlinjetidspunktets blodprøve til dødstidspunkt. For oppfølgingsanalysene ble PFS målt fra tiden fra oppfølgingsblodprøve til diagnose av progresjon eller død, og OS ble målt fra tiden for oppfølgingsblodprøve til dødstidspunkt.

### 1.1 CTC-frekvenser

CTC-resultatene innhentet fra oppfølgingsblodprøvene ved 3–5 uker, 6–8 uker, 9–12 uker og 13–20 uker etter initieringen av behandlingen, ble klassifisert å være gunstige (<5 CTC) eller ugunstige (≥5 CTC). Hvis mer enn ett CTC-resultat ble innhentet innenfor de bestemte oppfølgingstidspunktene, ble CTC-resultatet fra blodprøven lengst unna grunnlinjeblodprøven benyttet.

Av det totale MBC-pasientantallet på 177, var 23 ikke evaluerbare ved første oppfølging. Av disse 23 pasientene døde ti pasienter før en oppfølgingsblodprøve kunne bli innhentet, ni pasienter hadde progresjon før en oppfølgingsblodprøve og fire manglet ved oppfølging. Det er verdt å merke seg at alle de ti pasientene som døde, hadde ≥5 til ekstremt høye CTC-tellinger ved grunnlinjen (CTC-tellinger 9, 11, 15, 24, 111, 126, 301, 1143, 4648 og 23 618). Av de 154 pasientene som var tilgjengelige for oppfølging, hadde henholdsvis 132, 99, 129 og 85 pasienter en blodprøve ved 3–5, 6–8, 9–14 og 15–20 uker etter initiering av behandling.

**Tabell 3** gir et sammendrag av det totale antallet og prosenten av pasienter med ugunstig CTC i den kliniske testen for generell overlevelse som avviker fra antallet og prosenten av pasienter for progresjonsfri overlevelse vist i.

**Tabell 2.** Forskjellen i antall pasienter på ethvert tidspunkt mellom de to tabellene skyldes progresjon til noen av pasientene før blodprøven. Forskjellen i antall pasienter innenfor tabellene skyldes antallet pasienter med blodprøver og evaluerbare CTC-resultater ved hvert tidspunkt.

## 1.2 Analyse av progresjonsfri overlevelse (PFS) for MBC-pasienter

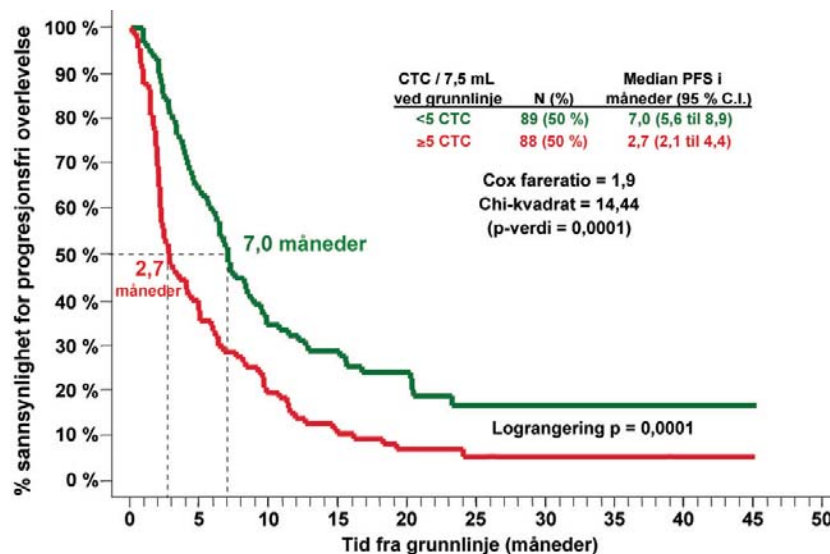
### 1.2.1 PFS ved bruk av grunnlinje CTC-resultater

Alle 177 MBC-pasientene fikk gjennomført en grunnlinje CTC-test. For Kaplan-Meier-analyse ble pasientene segmentert inn i to grupper basert på sin CTC-telling ved grunnlinjen:

- Den gunstige gruppen (N=89), representert i **grønt**, besto av pasienter med <5 CTC.
- Den ugunstige gruppen (N=88), representert i **rødt**, besto av pasienter med ≥5 CTC.

Median PFS var signifikant lengre i den gunstige gruppen sammenlignet med den ugunstige gruppen (henholdsvis 7,0 og 2,7 måneder). Disse resultatene er illustrert i **Figur 1**.

**Figur 1:** PFS hos MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved grunnlinje (N=177).



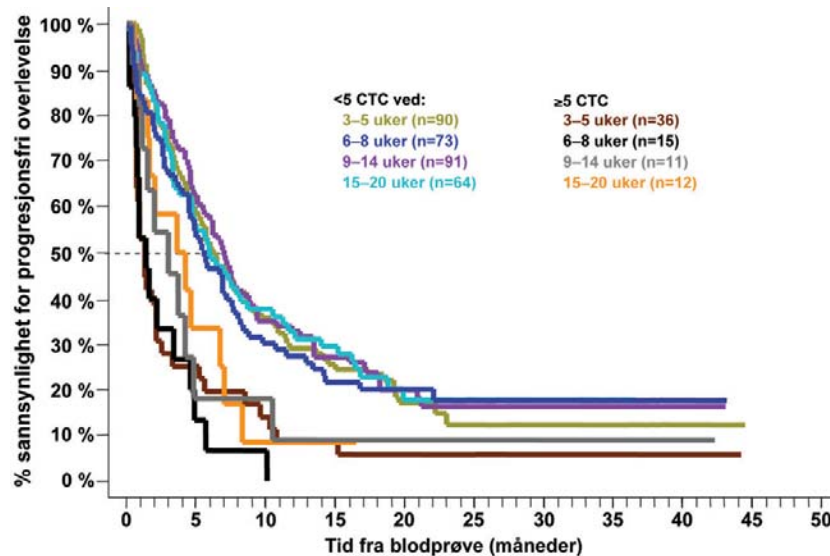
### 1.2.2 PFS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater

For Kaplan-Meier-analyse ble MBC-pasientene segmentert i to grupper basert på deres CTC-telling ved hver av de forskjellige oppfølgingsblodprøvene. Begge pasientgruppene ved hver av de forskjellige oppfølgingsblodprøvetidspunktene etter initiering av behandlingen for PFS er illustrert i **Figur 2**. PFS-tider ble beregnet fra tidspunktet for hver blodprøve, og alle pasienter som viser tegn på progresjon før en bestemt blodprøve, ble ekskludert fra analysen av denne og alle følgende oppfølgingsblodprøver. **Figur 2** illustrerer evnen til CTC, i pasienter med <5 og ≥5 CTC 3–5 uker, 6–8 uker, 9–14 uker og 15–20 uker etter initiering av behandlingen, til å forutsi tidspunktet for klinisk progresjon i 177 pasienter med metastatisk brystkreft.

- Den gunstige gruppen, representert i **olivengrønt, blått, fiolett og cyan**, besto av pasienter med <5 CTC,
- Den ugunstige gruppen, representert i **brunt, sort, grått og oransje**, besto av pasienter med ≥5 CTC.



Figur 2: PFS hos MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved forskjellige tider for oppfølging



Tabell 2 gir et sammendrag av resultatene til PFS-analysen ved bruk av CTC-nivåene og en terskel på ≥5 CTC/7,5 mL ved hver av de forskjellige blodprøvetidspunktene.

Tabell 2: Progresjonsfri overlevelse (PFS) for MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC på forskjellige tidspunkter

| 1                                   | 2   | 3         | 4                              | 5                | 6                     |
|-------------------------------------|-----|-----------|--------------------------------|------------------|-----------------------|
| Prøvetakingstid etter Tx initiering | N   | ≥ 5 CTC   | Median PFS i måneder (95 % CI) |                  | Log-rangering p-verdi |
|                                     |     |           | <5 CTC                         | ≥ 5 CTC          |                       |
| Grunnlinje                          | 117 | 88 (50 %) | 7,0 (5,6 to 8,9)               | 2,7 (2,1 to 4,4) | 0,0001                |
| 3-5 uker                            | 126 | 36 (29 %) | 6,1 (4,7 to 8,6)               | 1,3 (0,7 to 2,1) | <0,0001               |
| 6-8 uker                            | 88  | 15 (17 %) | 5,6 (4,5 to 7,6)               | 1,4 (0,6 to 3,4) | 0,0001                |
| 9-14 uker                           | 102 | 11 (11 %) | 7,0 (5,1 to 8,8)               | 3,0 (0,9 to 4,8) | 0,0251                |
| 15-20 uker                          | 76  | 12 (16 %) | 5,9 (3,8 to 8,7)               | 3,6 (0,7 to 7,0) | 0,0610                |

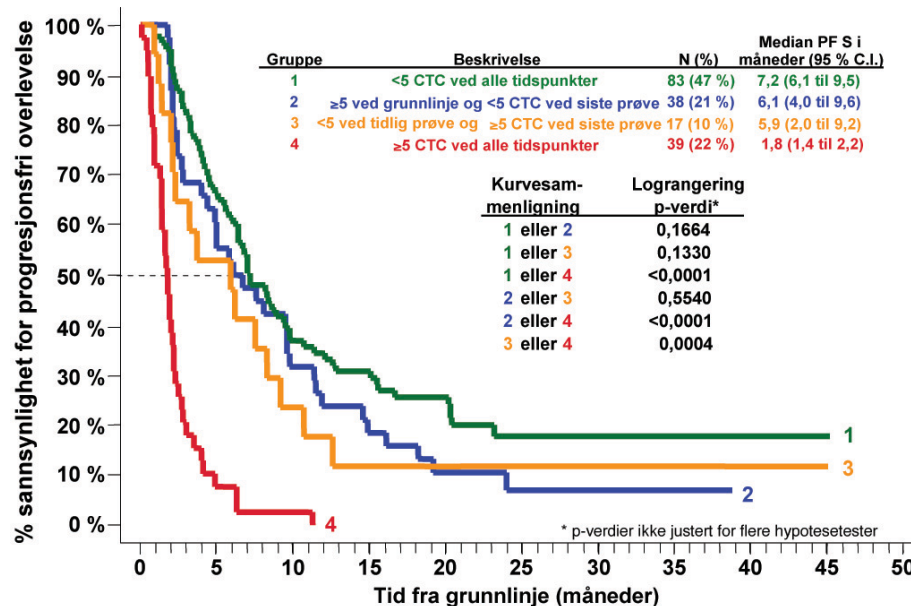
Som illustrert i **Figur 2** og **Tabell 2**, hadde pasienter med elevert CTC (≥5 CTC/7,5 mL fullblod) på ethvert tidspunkt en mye høyere sannsynlighet for hurtig progresjon enn dem med <5 CTC. **Tabell 2** kolonne 4 viser median PFS-tider for pasientene med <5 CTC rangert fra 5,6 til 7,0 måneder, og var vesentlig lengre enn median PFS-tider for pasientene med ≥5 CTC, som var rangert fra 1,3 til 3,6 måneder (kolonne 5).

### 1.2.3 Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert PFS

Utløpte PFS-tider ble beregnet fra grunnlinjebloodprøven. For Kaplan-Meier-analyse (**Figur 3**) ble MBC-pasienter segmentert i fire grupper basert på sine CTC-tellinger ved grunnlinje, 3–5 uker, 6–8 uker, 9–14 uker og 15–20 uker etter initiering av behandlingen:

- Gruppe 1 (**grønn** kurve), 83 (47 %) pasienter med <5 CTC ved alle tidspunkter for blodprøver. Fem (6 %) av disse pasientene hadde kun en grunnlinjebloodprøve mens to (2 %) hadde en enkelt blodprøve mellom sin første og siste blodprøve som hadde ≥5 CTC;
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 38 (21 %) pasienter med ≥5 CTC før initiering av behandling, men som hadde gått ned til <5 CTC på tidspunkt for sin siste blodprøve;
- Gruppe 3 (**oransje** kurve), 17 (10 %) pasienter med <5 CTC ved en tidlig prøve (grunnlinje, 3–5 uker og/eller 6–8 uker), men som hadde en økning til ≥5 CTC på tidspunktet for siste blodprøve;
- Gruppe 4 (**rød** kurve), 39 (22 %) pasienter med ≥5 CTC ved alle tidspunkter for blodprøver. Ti (26 %) av disse pasientene hadde kun en grunnlinjebloodprøve.

Figur 3: En reduksjon i CTC til under 5 etter initiering av behandlingen forutsier lengre PFS hos MBC-pasienter



Figur 3 viser at MBC-pasienter med  $\geq 5$  CTC på alle tidspunkter (gruppe 4) hadde den korteste median PFS, som var signifikant forskjellig sammenlignet med median PFS til gruppe 3, gruppe 2 og gruppe 1. Forskjeller mellom kurvene for de andre gruppene i denne figuren var ikke signifikante.

### 1.3 Analyse av generell overlevelse (OS) hos MBC-pasienter

#### 1.3.1 OS-analyse ved bruk av grunnlinje CTC-resultater

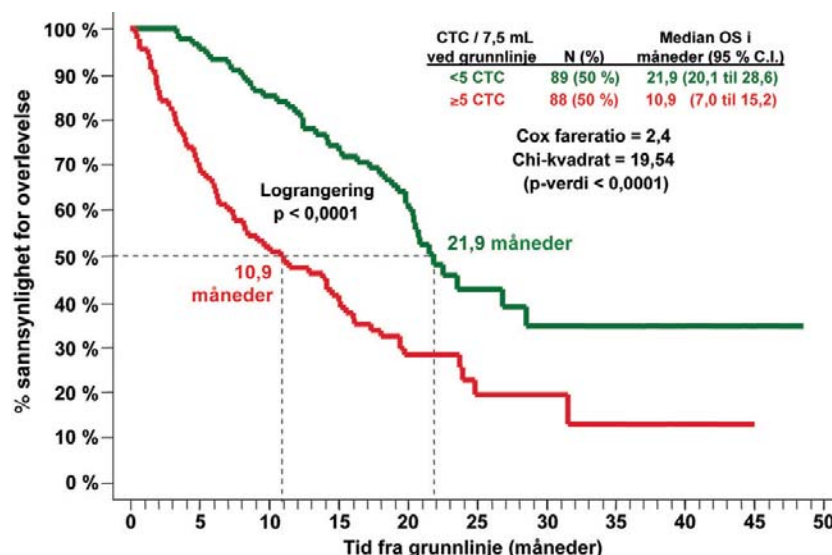
Død forekom i 109 (62 %) av de 177 MBC-pasientene, med en middels oppfølgingstid for de 68 (38 %) pasientene som fremdeles var i live på  $22,7 \pm 9,4$  måneder (median = 21,1, område = 4,4–48,6). På tidspunktet for disse analysene, var 44 (49 %) av 89 pasienter fra den gunstige gruppen (<5 CTC ved grunnlinje) sammenlignet med 65 (74 %) av 88 fra den ugunstige gruppen ( $\geq 5$  CTC ved grunnlinje) døde.

For Kaplan-Meier-analyse ble pasientene segmentert inn i to grupper basert på sin CTC-telling ved grunnlinjen:

- Den gunstige gruppen (N=89), representert i **grønt**, besto av pasienter med <5 CTC.
- Den ugunstige gruppen (N=88), representert i **rødt**, besto av pasienter med  $\geq 5$  CTC.

Median OS var signifikant lengre i den gunstige gruppen sammenlignet med den ugunstige gruppen (henholdsvis 21,9 og 10,9 måneder). Disse resultatene er illustrert i Figur 4.

Figur 4: OS til MBC-pasienter med <5 eller  $\geq 5$  CTC ved grunnlinje (N=177).

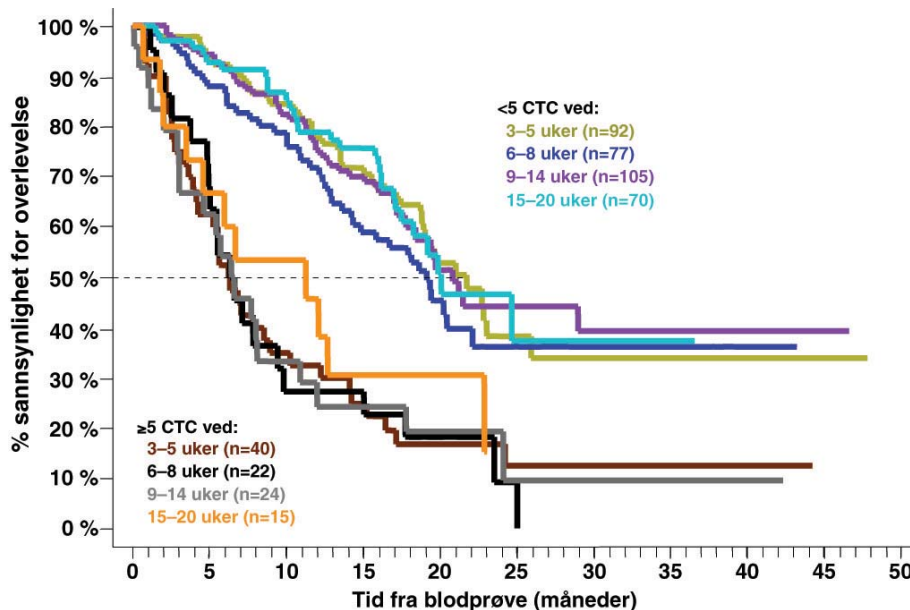


### 1.3.2 OS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater

Kaplan-Meier-analyse på begge MBC-pasientgruppene ved hver av de forskjellige oppfølgingsblodprøvetidspunktene etter initiering av behandlingen er illustrert i **Figur 5**. Denne figuren illustrerer evnen hos CTC i MBC-pasienter med <5 og ≥5 CTC 3–5 uker, 6–8 uker, 9–14 uker og 15–20 uker etter initiering av behandlingen, til å forutsi død tidspunkt til 177 pasienter med metastatisk brystkreft. OS-tider ble beregnet fra tidspunktet for hver blodprøve.

- Den gunstige gruppen, representert i **olivengrønt, blått, fiolett og cyan**, besto av pasienter med <5 CTC
- Den ugunstige gruppen, representert i **brunt, sort, grått og oransje**, besto av pasienter med ≥5 CTC.

**Figur 5:** OS hos MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved forskjellige tider for oppfølging.



**Tabell 3** gir et sammendrag av resultatene til OS-analysen ved bruk av CTC-nivåene og en terskel på ≥5 CTC/7,5 mL ved hver av de forskjellige blodprøvetidspunktene.

**Tabell 3:** Generell overlevelse (OS) for MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC på forskjellige tidspunkter

| 1                                   | 2   | 3         | 4                             | 5                 | 6                     |
|-------------------------------------|-----|-----------|-------------------------------|-------------------|-----------------------|
| Prøvetakingstid etter Tx initiering | N   | ≥ 5 CTC   | Median OS i måneder (95 % CI) |                   | Log-rangering p-verdi |
|                                     |     |           | <5 CTC                        | ≥ 5 CTC           |                       |
| Grunnlinje                          | 177 | 88 (50 %) | 21,9 (20,1 à 28,6)            | 10,9 (7,0 à 15,2) | <0,0001               |
| 3-5 uker                            | 132 | 40 (30 %) | 21,7 (18,8 à 25,9)            | 6,2 (4,1 à 8,9)   | <0,0001               |
| 6-8 uker                            | 99  | 22 (22 %) | 19,1 (14,2 à 22,1)            | 6,3 (4,8 à 9,8)   | 0,0001                |
| 9-14 uker                           | 129 | 24 (19 %) | 20,8 (17,8 à ≥ 45)            | 6,4 (3,0 à 10,9)  | <0,0001               |
| 15-20 uker                          | 85  | 15 (18 %) | 20,1 (17,1 à ≥ 35)            | 11,3 (2,0 à 22,9) | 0,0021                |

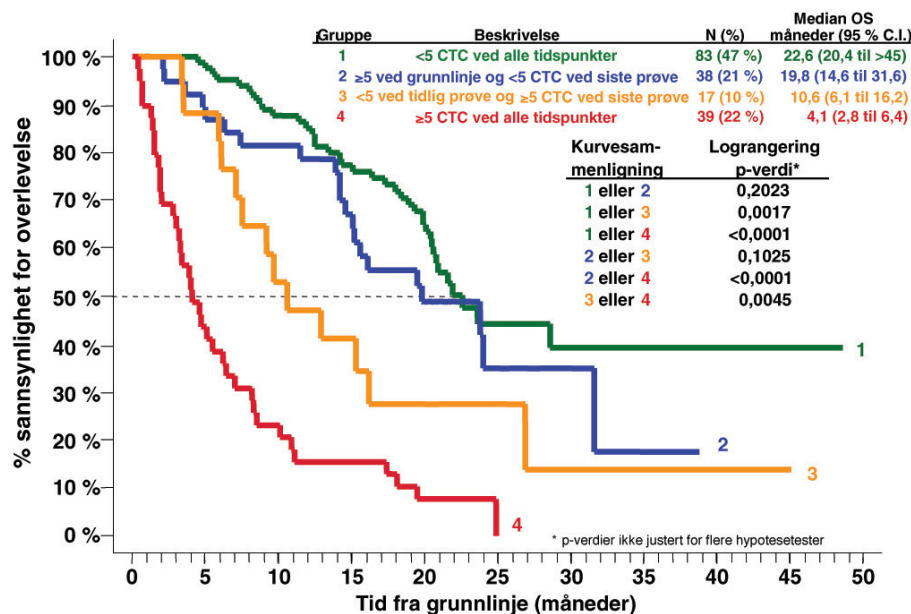
### 1.3.3 Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert OS

Utløpte OS-tider ble beregnet fra grunnlinjebloodprøven. For Kaplan-Meier-analyse (**Figur 6**) ble pasientene segmentert i fire grupper basert på sine CTC-tellinger ved grunnlinje, 3–5 uker, 6–8 uker, 9–14 uker og 15–20 uker etter initiering av behandlingen:

- Gruppe 1 (**grønn** kurve), 83 (47 %) pasienter med <5 CTC ved alle tidspunkter for blodprøver. Fem (6 %) av disse pasientene hadde kun en grunnlinjebloodprøve mens to (2 %) hadde en enkelt blodprøve mellom sin første og siste blodprøve som hadde ≥5 CTC;
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 38 (21 %) pasienter med ≥5 CTC før initiering av behandling, men som hadde gått ned til <5 CTC på tidspunkt for sin siste blodprøve;
- Gruppe 3 (**oransje** kurve), 17 (10 %) pasienter med <5 CTC ved en tidlig prøve (grunnlinje, 3–5 uker og/eller 6–8 uker), men som hadde en økning til ≥5 CTC på tidspunktet for siste blodprøve;
- Gruppe 4 (**rød** kurve), 39 (22 %) pasienter med ≥5 CTC ved alle tidspunkter for blodprøver. Ti (26 %) av disse pasientene hadde kun en grunnlinjebloodprøve.

**Figur 6** viser at MBC-pasienter som overskred terskelen på 5 CTC på noe tidspunkt etter initieringen av behandlingen, hadde en mye større mulighet for kortere generell overlevelse. Pasienter med  $\geq 5$  CTC på alle tidspunkter (**gruppe 4**) hadde den korteste median OS, som var signifikant forskjellige sammenlignet med median OS til **gruppe 3**, **gruppe 2** og **gruppe 1**. Forskjellen i median overlevelse mellom **gruppe 3** og **gruppe 1** var også signifikant, og selv om median OS for **gruppe 3** var kortere sammenlignet med **gruppe 2**, var ikke forskjellen statistisk signifikant. **Figur 6** viser også at pasientene som hadde  $\geq 5$  CTC ved grunnlinjen, men som etterhvert ble redusert til  $<5$  CTC etter initieringen av behandlingen, hadde omtrent samme risiko for død som de pasientene som aldri overskred terskelen på 5 CTC.

**Figur 6:** En reduksjon i CTC til under 5 etter initieringen av behandlingen, forutsier lengre OS, mens en økning i CTC-tellingen til 5 eller høyere forutsier kortere OS hos MBC-pasienter.



Som illustrert i **Figur 6** og **Tabell 3** i kolonnene 4 og 5, hadde MBC-pasienter med  $\geq 5$  CTC på noen av tidspunktene en mye høyere sannsynlighet for å dø tidligere enn dem med  $<5$  CTC. Median OS-tider hos pasienter med  $<5$  CTC som strakte seg fra 19,1 til 21,9 måneder, var betydelig lengre enn median OS-tider hos pasienter med  $\geq 5$  CTC som strakte seg fra 6,2 til 11,3 måneder.

#### 1.3.4 Univariate Cox regresjonsanalyse hos MBC-pasienter

Følgende parametre ble analysert med univariate Cox regresjonsanalyse for å evaluere forbindelsen med PFS og OS: pasientalder (kontinuerlig), sykdomstrinn ved diagnose (1–4), tid til metastase (kontinuerlig), ECOG-status før initiering av en ny behandlingslinje (0–2), ER/PR-status (+/-), HER2/neu-status (0–3+), behandlingslinje ( $\geq 2$ . eller 1.), behandlingstype (kun kjemo eller hormonell / kombinasjon), grunnlinje CTC-telling ( $\geq 5$  eller  $<5$  CTC/7,5 mL), og oppfølgings CTC-tellinger 3–5 uker, 6–8 uker, 9–14 uker og 15–20 uker etter initiering av behandlingen ( $\geq 5$  eller  $<5$  CTC/7,5 mL). **Tabell 4** viser resultatene av denne analysen og presenter Cox fareratio (HR) og assosiert p-verdi (Wald-test av Z-statistikk) og antallet pasienter i hver evaluering.

**Tabell 4: Univariate Cox regresjonsanalyse hos MBC-pasienter**

| Parameter                       | Kategorier                   |                  | Ant. MBC Pasienter | PFS-risiko fra grunnlinje |         | OS-risiko fra grunnlinje |         |
|---------------------------------|------------------------------|------------------|--------------------|---------------------------|---------|--------------------------|---------|
|                                 | Positiv                      | Negativ          |                    | HR                        | p-verdi | HR                       | p-verdi |
| Alder ved grunnlinje-blod-prøve | Alder i år                   |                  | 175                | 0,99                      | 0,173   | 0,99                     | 0,375   |
| Trinn ved primær diagnose       | 4 eller 3 eller 2 eller 1    |                  | 164                | 0,97                      | 0,723   | 1,00                     | 0,969   |
| ER/PR                           | Positiv                      | Negativ          | 175                | 0,84                      | 0,327   | 0,53                     | 0,002   |
| Her-2/neu                       | 3+ eller 2+ eller 1+ eller 0 |                  | 148                | 0,91                      | 0,207   | 0,93                     | 0,422   |
| Grunnlinje ECOG-status          | Tid i år                     |                  | 172                | 1,14                      | 0,307   | 1,64                     | 0,001   |
| Tid til metastase               | Yr Olarak Zaman              |                  | 175                | 0,97                      | 0,048   | 0,95                     | 0,018   |
| Behandlingslinje                | ≥ 2 <sup>a</sup>             | 1 <sup>a</sup>   | 175                | 1,55                      | 0,007   | 1,91                     | 0,001   |
| Behandlingstype                 | Kun kjemo                    | H / C og/eller I | 172                | 1,97                      | <0,001  | 2,22                     | <0,001  |
| Grunnlinje CTC-antall           | ≥ 5                          | <5               | 177                | 1,85                      | <0,001  | 2,36                     | <0,001  |
| 3–5 uker CTC-antall             | ≥ 5                          | <5               | 132                | 2,52                      | <0,001  | 3,30                     | <0,001  |
| 6–8 uker CTC-antall             | ≥ 5                          | <5               | 99                 | 3,57                      | <0,001  | 2,87                     | <0,001  |
| 9–14 uker CTC-antall            | ≥ 5                          | <5               | 129                | 2,89                      | <0,001  | 3,64                     | <0,001  |
| 15–20 uker CTC-antall           | ≥ 5                          | <5               | 85                 | 1,86                      | 0,041   | 2,85                     | 0,004   |

H / C / og/eller I – hormonell eller immunterapi alene eller kombinasjon av hormonell og/eller kjemo og/eller immunterapi

### 1.3.5 Multivariate Cox regresjonsanalyse hos MBC-pasienter

Multivariate Cox regresjonsanalyse ble utført for MBC-pasienter for å evaluere den uavhengige forutsigelsesevnen for CTC-telling ved å justere for virkningene av de kjente viktige kliniske faktorer som er statistisk signifikante i univariate-analysen. CTC ble funnet å være sterke indikatorer for PFS (Tabell 5) og OS (Tabell 6).

**Tabell 5: Multivariate Cox regresjonsanalyse av progresjonsfri overlevelse hos MBC-pasienter**

| Variabel                                           | N   | Fareratio | P-verdi |
|----------------------------------------------------|-----|-----------|---------|
| <b>Grunnlinje CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>             | 172 | 1,69      | 0,001   |
| Tid til metastase (år)                             |     | 0,98      | 0,154   |
| Behandlingslinje (1. eller ≥2.)                    |     | 1,52      | 0,013   |
| Behandlingstype (hormonell/annen eller kun kjemo)  |     | 1,74      | 0,001   |
| <b>3–5 uker oppfølgings-CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>   | 132 | 2,32      | <0,001  |
| Tid til metastase (år)                             |     | 0,97      | 0,166   |
| Behandlingslinje (1. eller ≥2.)                    |     | 1,68      | 0,008   |
| Behandlingstype (hormonell/annen eller kun kjemo)  |     | 1,50      | 0,060   |
| <b>6–8 uker oppfølgings-CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>   | 99  | 2,92      | <0,001  |
| Tid til metastase (år)                             |     | 0,93      | 0,023   |
| Behandlingslinje (1. eller ≥2.)                    |     | 1,36      | 0,175   |
| Behandlingstype (hormonell/annen eller kun kjemo)  |     | 1,90      | 0,005   |
| <b>9–14 uker oppfølgings-CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>  | 129 | 2,23      | 0,002   |
| Tid til metastase (år)                             |     | 0,97      | 0,170   |
| Behandlingslinje (1. eller ≥2.)                    |     | 1,48      | 0,061   |
| Behandlingstype (hormonell/annen eller kun kjemo)  |     | 1,73      | 0,007   |
| <b>15–20 uker oppfølgings-CTC (&lt;5 eller ≥5)</b> | 85  | 1,58      | 0,140   |
| Tid til metastase (år)                             |     | 0,96      | 0,064   |
| Behandlingslinje (1. eller ≥2.)                    |     | 1,80      | 0,018   |
| Behandlingstype (hormonell/annen eller kun kjemo)  |     | 1,66      | 0,049   |

**Tabell 6: Multivariate Cox regresjonsanalyse av generell overlevelse hos MBC-pasienter**

| Variabel                                           | N   | Fareratio | P-verdi |
|----------------------------------------------------|-----|-----------|---------|
| <b>Grunnlinje CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>             | 170 | 2,62      | <0,001  |
| ER/PR (negativ eller positiv)                      |     | 0,57      | 0,016   |
| Grunnlinje ECOG-status (2 eller 1 eller 0)         |     | 1,58      | 0,001   |
| Tid til metastase (år)                             |     | 0,97      | 0,078   |
| Behandlingslinje (1. eller 2.)                     |     | 2,33      | <0,001  |
| Behandlingstype (hormonell/annen eller kun kjemo)  |     | 1,78      | 0,006   |
|                                                    |     |           |         |
| <b>3–5 uker oppfølgings-CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>   | 130 | 3,78      | <0,001  |
| ER/PR (negativ eller positiv)                      |     | 0,51      | 0,020   |
| Grunnlinje ECOG-status (2 eller 1 eller 0)         |     | 1,69      | 0,001   |
| Tid til metastase (år)                             |     | 0,96      | 0,142   |
| Behandlingslinje (1. eller 2.)                     |     | 2,30      | 0,001   |
| Behandlingstype (hormonell/annen eller kun kjemo)  |     | 1,72      | 0,026   |
|                                                    |     |           |         |
| <b>6–8 uker oppfølgings-CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>   | 99  | 2,88      | 0,001   |
| ER/PR (negativ eller positiv)                      |     | 0,58      | 0,062   |
| Grunnlinje ECOG-status (2 eller 1 eller 0)         |     | 1,32      | 0,173   |
| Tid til metastase (år)                             |     | 0,94      | 0,135   |
| Behandlingslinje (1. eller 2.)                     |     | 2,51      | 0,001   |
| Behandlingstype (hormonell/annen eller kun kjemo)  |     | 2,33      | 0,003   |
|                                                    |     |           |         |
| <b>9–14 uker oppfølgings-CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>  | 129 | 4,14      | <0,001  |
| ER/PR (negativ eller positiv)                      |     | 0,39      | 0,002   |
| Grunnlinje ECOG-status (2 eller 1 eller 0)         |     | 1,57      | 0,016   |
| Tid til metastase (år)                             |     | 0,98      | 0,388   |
| Behandlingslinje (1. eller 2.)                     |     | 2,21      | 0,003   |
| Behandlingstype (hormonell/annen eller kun kjemo)  |     | 2,28      | 0,003   |
|                                                    |     |           |         |
| <b>15–20 uker oppfølgings-CTC (&lt;5 eller ≥5)</b> | 85  | 3,44      | 0,006   |
| ER/PR (negativ eller positiv)                      |     | 0,38      | 0,024   |
| Grunnlinje ECOG-status (2 eller 1 eller 0)         |     | 1,33      | 0,321   |
| Tid til metastase (år)                             |     | 0,94      | 0,150   |
| Behandlingslinje (1. eller 2.)                     |     | 3,43      | 0,001   |
| Behandlingstype (hormonell/annen eller kun kjemo)  |     | 1,67      | 0,166   |
|                                                    |     |           |         |

#### 1.4 Bruk av CTC til overvåkning av klinisk status til metastatisk brystkreft

##### 1.4.1 Forhold mellom overlevelse, CTC og sykdomsvurdering med bildeteknikker

Radiologisk bildeteknikk er en av de primære metodene for å bestemme sykdomsstatus og respons på behandling av metastatiske brystkreftpasienter. For å etablere forholdet til den kliniske statusen bestemt av bildeteknikker og CTC, ble CTC målt på to forskjellige tidspunkter og bilderesultater sammenlignet 1) med den faktiske kliniske generelle overlevelsen til slutt og 2) med hverandre.

##### 1.4.2 CTC

Tidligere data har vist at MBC-pasienter med ≥5 CTC / 7,5 mL med blod ved alle etterfølgende oppfølgingsbesøk etter initiering av behandlingen, hadde en større sannsynlighet for progressiv sykdom og redusert generell overlevelse sammenlignet med pasienter med <5 CTC / 7,5 mL med blod. CTC-resultatene innhentet ved første oppfølging etter initiering av behandlingen og CTC-resultatene innhentet i løpet av ± en måned av bildeteknisk studie, ble klassifisert som <5 CTC og ≥5 CTC. Hvis mer enn én CTC-verdi ble innhentet i løpet av ± én måned av bildeteknisk studie, ble CTC-resultatet innhentet nærmest datoen for bildeteknisk studie benyttet.

##### 1.4.3 Bildeteknikk

Alle bildeteknikker var i samsvar med standardene til Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM). Ved bruk av standardiserte digitale bilder, klassifiserte to ekspertradiologer (lesere), som arbeider hver for seg og uten tilgang til klinisk informasjon, hver oppfølgingssykdomsvurdering (totalt 231 bildeteknikkstudier) fra 138 pasienter med målbar sykdom som ubestemmelig (I), stabil sykdom (S), partiell respons (PR) eller progressiv lidelse (PD) i henhold til de bi-dimensjonelle kriteriene til World Health Organization (WHO). Målbar sykdom ble definert



som forekomst av minst én lesjon  $\geq 2$  cm i sin lengste dimensjon. Leserne identifiserte opp til åtte lesjoner per pasient per tidspunkt ved å beskrive den lengste dimensjonen til lesjonen og den lengste perpendikulære dimensjonen. Disse to dimensjonene ble multiplisert og "kryssproduktet" ble rapportert. Summerte målinger for kryssproduktene ble beregnet, og prosentvis endring fra forrige tidspunkt ble bestemt. Selv om alle pasientene hadde målbar sykdom, ble ikke-målbare lesjoner (som fremdeles kunne detekteres radiologisk) inkludert i bestemmelsen av pasientens status som beskrevet i WHO-retningslinjene. Progressiv sykdom ble definert som en  $>25\%$  økning i summen av alle lesjoner eller framspring av en ny målbar eller ikke-målbar lesjon. Partiell respons ble definert som en reduksjon i summen av alle lesjoner på  $\geq 50\%$  og ingen nye lesjoner.

Radiologiske tolkninger fra de to ekspertradiologene ble klassifisert som følger:

- S og PR ble begge ansett å reflektere ikke-progressiv sykdom (NPD)
- PD ble ansett å reflektere progressiv sykdom
- I situasjoner hvor en av radiologene vurderte en klassifisering som ubestemmelig (I), men den andre radiologen vurderte en klassifisering som S, PR eller PD, ble klassifiseringen til den siste radiologen brukt til sammenligning med CTC (n=11)
- Når begge radiologene vurderte en klassifisering som ubestemmelig (I), ble ikke dataene brukt til sammenligning med CTC (n=3)
- En tredje, uavhengig radiolog avgjorde uenigheter mellom de to primære leserne vedrørende PD og NPD (n=27)
- I situasjoner hvor den tredje radiologen vurderte en klassifisering som ubestemmelig (I), ble ikke dataene brukt til sammenligning med CTC (n=2)
- I serier med bildeteknikkstudier ble radiologieresultater som var mindre enn én måned fra en tidligere tabulert observasjon, ikke benyttet (n=1).

#### 1.4.4 Forholdet mellom overlevelse ihht. bildeteknikk og CTC

Separate Kaplan-Meier-analyser ble utført for å sammenligne generell overlevelse hos MBC-pasienter i de gunstige ( $<5$  CTC) og ugunstige ( $\geq 5$  CTC) gruppene ved bruk av CTC-resultater ved to forskjellige tidspunkter og første oppfølgings bildeteknikkstudie. Bruk av resultater fra den første oppfølgings-bildeteknikkstudien gjennomført 10,1 $\pm$ 5,1 uker (median = 9,0 uker) etter initiering av behandling (dvs. grunnlinje-blodprøve), var median overlevelse hos de 96 (70 %) pasientene bestemt ved bildeteknologi å være NPD, 23,8 måneder (95 % CI 20,4 til 28,6) (**Figur 7, Tabell 7**). For de 42 (30 %) pasientene som ved bildeteknikk ble vurdert å være PD, var median overlevelse 12,9 måneder (95 % CI 7,1 til 19,3).

For CTC ved første oppfølgingsblodprøve, gjennomført 4,3  $\pm$ 2,5 uker (median = 4,0 uker) etter initiering av behandling, var median overlevelse av 104 (75 %) pasienter med gunstige CTC-resultater ( $<5$  CTC) 21,9 måneder (95 % CI 20,4 til 26,9) (**Figur 8, Tabell 7**). Trettifire (34) pasienter (25 %) med ugunstige CTC-resultater ( $\geq 5$  CTC) hadde en median overlevelse på 8,3 måneder (95 % CI 5,9 til 15,1).

For å bestemme om CTC-vurderinger foretatt nærmere i tid til bildeteknikk-vurderingene resulterte i samme overlevelsesprospekter sammenlignet med CTC-vurderinger utført omtrent 4 uker etter initiering av behandling, ble kun de pasientene med CTC-vurderinger gjennomført i løpet av  $\pm$  én måned fra første oppfølgings-bildeteknikkstudie (9,9  $\pm$ 5,1 uker, median = 8,8 uker, etter initiering av behandling) analysert (**Figur 9, Tabell 7**). Ett hundre og trettifire (134) av de 138 pasientene (97 %) hadde CTC-vurderinger i løpet av én måned etter første oppfølgings-bildeteknikkstudie. Median overlevelse til 105 (78 %) pasienter med gunstig CTC-resultater var 21,9 måneder (95 % CI 19,9 til 31,6). For 29 (22 %) pasienter med ugunstige CTC-resultater, var median overlevelse 8,5 måneder (95 % CI 5,5 til 15,1). Disse dataene viser at CTC-vurderinger på begge tidspunktene ga like resultater med bildeteknikk gjennomført omtrent 9 uker etter initieringen av behandlingen (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, November 2006).

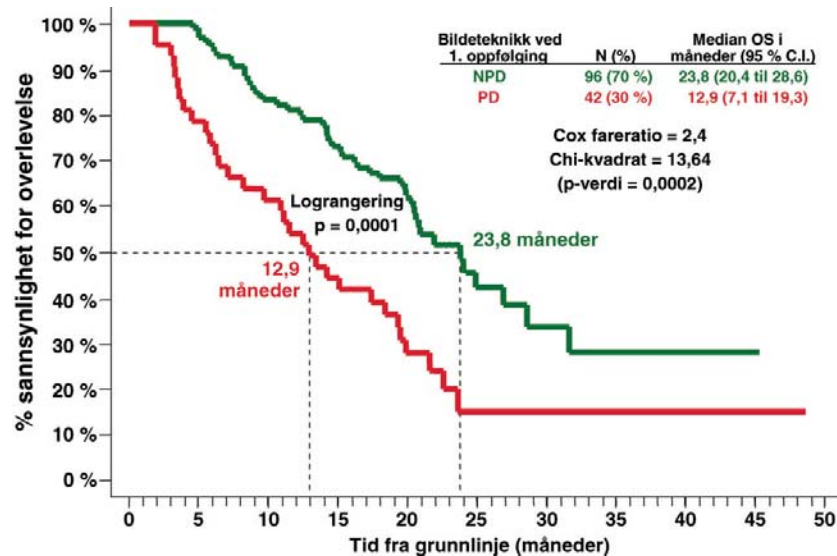


Tabell 7: OS hos MBC-pasienter med CTC-vurdering omtrent én måned etter initiering av behandling og innenfor én måned for den radiologiske vurderingen

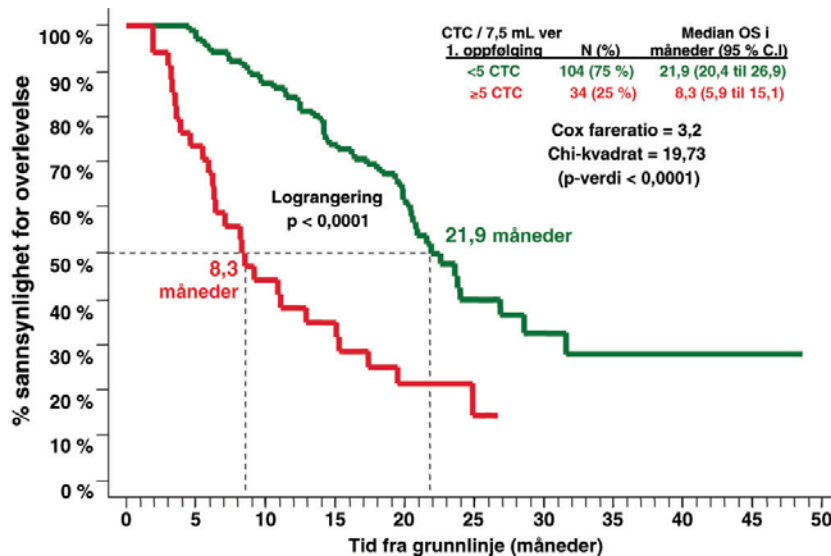
|                                        | N          | Median overlevelse og (95 % CI) måneder |
|----------------------------------------|------------|-----------------------------------------|
| <b>Bildeteknikk</b>                    | 138        |                                         |
| gunstig(NPD)                           | 96 (70 %)  | 23,8 (20,4 – 28,6)                      |
| ugunstig (PD)                          | 42 (30 %)  | 12,9 ( 7,1 – 19,3)                      |
| <b>1. oppfølging CTC</b>               | 138        |                                         |
| gunstig (<5)                           | 104 (75 %) | 21,9 (20,4 – 26,9)                      |
| ugunstig (≥5)                          | 34 (25 %)  | 8,3 ( 5,9 – 15,1)                       |
| <b>CTC (±1 måned for bildeteknikk)</b> | 134*       |                                         |
| gunstig (<5)                           | 105 (78 %) | 21,9 (19,9 – 31,6)                      |
| ugunstig (≥5)                          | 29 (22 %)  | 8,5 ( 5,5 – 15,1)                       |

\*134 /138 pasienter hadde CTC-vurderinger utført i løpet av (±)1 måned for bildeteknikk.

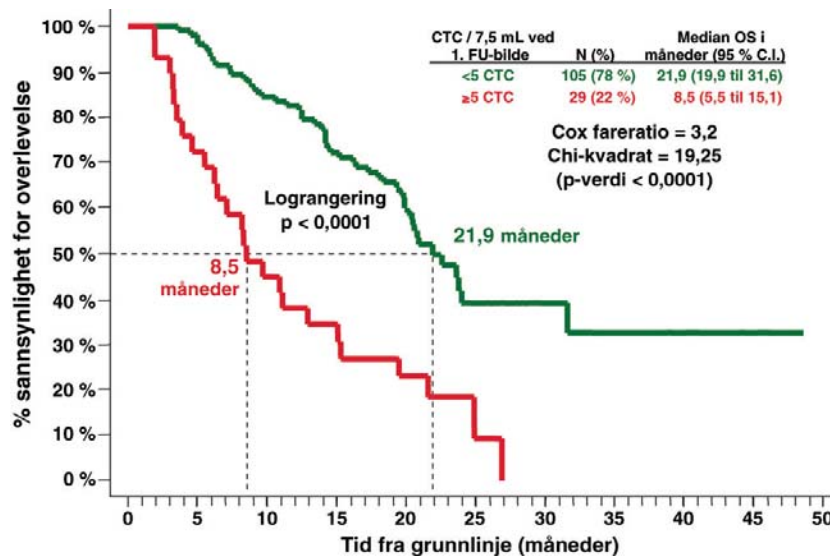
Figur 7: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MBC-pasienter med NPD eller PD ved 1. oppfølgings-bildeteknikkstudie (N=138)



Figur 8: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved første oppfølging etter initiering av behandling (N=138)



Figur 9: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MBC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC i løpet av ±1 måned til 1. oppfølgings-bildeteknikkstudie (N=138)



#### 1.4.5 Konkordanser mellom CTC og radiologisk overvåkning

Som angitt over er bildeteknikkstudier en viktig komponent i gjeldende pleiestandard for å bestemme sykdomsprogresjon og respons på behandling innen området metastatisk brystkreft. For å ytterligere støtte effektiviteten til CTC i å foreta disse kliniske vurderingene (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, November 2006), ble to ganger to tabuleringer med konkordante og diskordante observasjoner mellom CTC og radiologisk bildeteknikk konstruert ved bruk av de tidligere beskrevne kriteriene.

Ved bruk av kun 1. oppfølgings-bildeteknikkstudie ble den radiologiske responsen ved dette besøket sammenlignet med CTC-resultatene innhentet innen ± én måned i forhold til denne bildeteknikkstudien. Totalt 134 av de 138 MBC pasientene (97 %) hadde CTC-resultater som oppfylte disse kriteriene. Resultatet av denne "pasientvise" sammenligningen mellom CTC og bildeteknikk er vist i **Tabell 8**.

**Tabell 8: MBC pasientvis sammenligning av CTC og bildeteknikk**

| Respons ved 1. oppfølgings-bildeteknikkstudie | CTC innenfor ±1 måned av bildeteknikk |                 | Totalt     |
|-----------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------|------------|
|                                               | <5 CTC / 7,5mL                        | ≥ 5 CTC / 7,5mL |            |
| Ikke-progressiv sykdom                        | 85                                    | 9               | 94         |
| Progressiv sykdom                             | 20                                    | 20              | 40         |
| <b>Totalt</b>                                 | <b>105</b>                            | <b>29</b>       | <b>134</b> |

| Måling                     | Estimat | Nedre 95 % CI | Øvre 95 % CI |
|----------------------------|---------|---------------|--------------|
| Positiv % overensstemmelse | 50 %    | 34 %          | 66 %         |
| Negativ % overensstemmelse | 90 %    | 83 %          | 96 %         |
| Positiv prediktiv verdi    | 69 %    | 49 %          | 85 %         |
| Negativ prediktiv verdi    | 81 %    | 72 %          | 88 %         |
| Generell overensstemmelse  | 78 %    | 70 %          | 85 %         |
| Odds-forhold               | 9,4     | 3,4           | 26,8         |

Ved bruk av alle oppfølgings-bildeteknikkstudier utført etter initieringen av behandlingen på de 138 MBC-pasientene som ble vurdert som brukbare radiologiske responsresultater (n=225), ble disse resultatene så sammenlignet med CTC-resultater innhentet i løpet av ± én måned av bildeteknikkstudien. Totalt 219 av de 225 (97 %) bildeteknikkstudiene hadde CTC-resultater som oppfylte dette kriteriet. Resultatet av denne "observasjonsvise" sammenligningen mellom CTC og bildeteknikk er vist i **Tabell 9**.

**Tabell 9: MBC observasjonsvis sammenligning av CTC og bildeteknikk**

| Respons ved alle oppfølgings-bildeteknikkstudier | CTC innenfor ±1 måned av bildeteknikk |                 | Totalt     |
|--------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------|------------|
|                                                  | <5 CTC / 7,5mL                        | ≥ 5 CTC / 7,5mL |            |
| Ikke-progressiv sykdom                           | 151                                   | 16              | 167        |
| Progressiv sykdom                                | 30                                    | 22              | 52         |
| <b>Totalt</b>                                    | <b>181</b>                            | <b>38</b>       | <b>219</b> |

| Måling                     | Estimat | Nedre 95 % CI | Øvre 95 % CI |
|----------------------------|---------|---------------|--------------|
| Positiv % overensstemmelse | 42 %    | 29 %          | 57 %         |
| Negativ % overensstemmelse | 90 %    | 85 %          | 94 %         |
| Positiv prediktiv verdi    | 58 %    | 41 %          | 74 %         |
| Negativ prediktiv verdi    | 83 %    | 77 %          | 89 %         |
| Generell overensstemmelse  | 79 %    | 73 %          | 84 %         |
| Odds-forhold               | 6,9     | 3,0           | 15,8         |

I serieobservasjoner sammenfalt kun et mindretall av overgangene for bildeteknikkresultatene mellom ikke progressiv sykdom og progressiv sykdom med en matchende overgang i CTC-tellinger mellom <5 og ≥5 CTC / 7,5 mL.

Fordi den prognostiske verdien til CTC-resultatene på et tidligere tidspunkt var ekvivalente med den til CTC-resultatet på tiden for bildene (**Figur 8** og **Figur 9**), ble det konstruert en pasientvis sammenligning ved bruk av resultater fra kun den 1. oppfølgings-bildeteknikkstudien, gjennomført omtrent 9 uker etter initiering av behandlingen, og CTC resultatene innhentet ved 1. oppfølging, gjennomført omtrent 4 uker etter initiering av behandlingen. Alle 138 MBC-pasienter hadde CTC-resultater som oppfylte dette kriteriet. Resultatet av denne "pasientvise" sammenligningen mellom CTC på et tidligere tidspunkt og bildeteknikk er vist i **Tabell 10**.

Tabell 10: MBC pasientvis sammenligning av CTC og bildeteknikk

| Respons ved 1. oppfølgings-<br>bildeteknikkstudie | CTC ved 1. oppfølging |                 | Totalt     |
|---------------------------------------------------|-----------------------|-----------------|------------|
|                                                   | <5 CTC / 7,5mL        | ≥ 5 CTC / 7,5mL |            |
| Ikke-progressiv sykdom                            | 84                    | 12              | 96         |
| Progressiv sykdom                                 | 20                    | 22              | 42         |
| <b>Totalt</b>                                     | <b>104</b>            | <b>34</b>       | <b>138</b> |

| Måling                     | Estimat | Nedre<br>95 % CI | Øvre<br>95 % CI |
|----------------------------|---------|------------------|-----------------|
| Positiv % overensstemmelse | 52 %    | 36 %             | 68 %            |
| Negativ % overensstemmelse | 88 %    | 79 %             | 93 %            |
| Positiv prediktiv verdi    | 65 %    | 46 %             | 80 %            |
| Negativ prediktiv verdi    | 81 %    | 72 %             | 88 %            |
| Generell overensstemmelse  | 77 %    | 69 %             | 84 %            |
| Odds-forhold               | 7,7     | 3,0              | 19,9            |

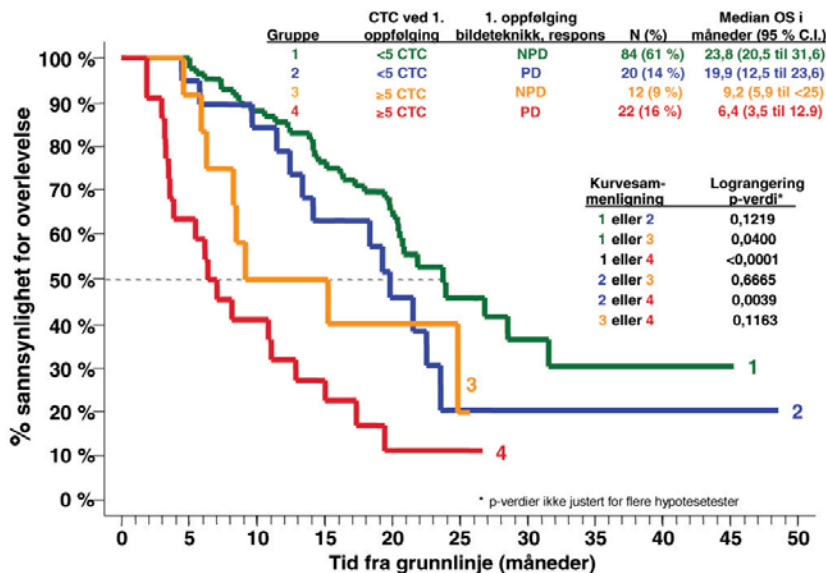
#### 1.4.6 CTC som et supplement til bildeteknikk

Mens den generelle overensstemmelsen mellom CTC og bildeteknikk var god (omtrent 78 %), var det manglende overensstemmelse hos omtrent 22 % av MBC-pasientene. Da informasjonen fra CTC-vurderingene er ment brukt i sammenheng med andre diagnostiske metoder for å ta avgjørelser om behandling, ble CTC-vurderinger ved 1. oppfølging (omtrent 4 uker etter initieringen av behandlingen) og bildeteknikk i de følgende gruppene sammenlignet med OS for å bestemme hvilke av de diskordante resultatene som best reflekterte prognosen til pasienten (**figur 10**):

- Gruppe 1 (**grønn** kurve), 84 (61 %) pasienter med <5 CTC ved 1. oppfølging og NPD;
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 20 (14 %) pasienter med <5 CTC ved 1. oppfølging og PD;
- Gruppe 3 (**grønn** kurve), 12 (9 %) pasienter med ≥5 CTC ved 1. oppfølging og NPD;
- Gruppe 4 (**rød** kurve), 22 (16 %) pasienter med ≥5 CTC ved 1. oppfølging og PD.

I denne studien er CTC-bestemmelsen en sterk uavhengig indikator for generell overlevelse. Studieresultatene indikerte at kombinasjonen av CTC- og radiologiske vurderinger gir den mest nøyaktige vurderingen av prognosen.

Figur 10: OS hos MBC-pasienter i gruppene 1, 2, 3 og 4 ved bruk av 1. oppfølging av CTC-vurdering etter initiering av behandlingen (n=138) og sykdomsstatus bestemt ved 1. oppfølging med bildeteknikkstudie



## 1.5 Variabilitet av CTC- og radiologiske vurderinger

### 1.5.1 CTC

Variabilitet mellom lesere for CTC-tellinger ved første oppfølgingsblodprøve ble bestemt ved å telle antall tilfeller hvor operatøren ved teststedet ikke var i konkordans med det sentrale laboratoriet ved klassifisering av en prøve som  $\geq 5$  CTC eller  $< 5$  CTC. I et undersett med 71 pasienter ble det tatt to rør med blod som ble prosessert, og klassifiseringen i  $\geq 5$  CTC eller  $< 5$  CTC i hvert av de to rørene bestemt på stedet eller av det sentrale laboratoriet ble sammenlignet.

### 1.5.2 Bildeteknikk

Variabilitet mellom lesere ble bestemt ved å sammenligne de radiologiske tolkningene til to radiologer, klassifisert som NPD eller PD. Variabilitet mellom lesere ble beregnet ved å sammenligne de radiologiske tolkningene til de to radiologene i et undersett av pasienter hvor hver radiolog bestemte responsen ved tre separate seanser, hver seanse separert med minimum én uke. Bildeteknikksegmenter til senere vurdering av disse 138 MBC pasientene og CTC vurderinger før initiering av behandling og ved senere oppfølginger, ble også studert.

**Tabell 11: Variabilitet til radiologisk og CTC-vurderinger hos MBC-pasienter**

|                        | n   | Radiologi<br>NPD eller PD<br>manglende<br>overensstemmelse | n   | CTC / 7,5 mL<br><5 eller <5<br>manglende<br>overensstemmelse |
|------------------------|-----|------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------|
| <i>Mellom lesere</i>   |     |                                                            |     |                                                              |
| 1. oppfølging          | 132 | 11,4 %                                                     | 138 | 0,7 %                                                        |
| Enhver oppfølging      | 217 | 13,4 %                                                     | 695 | 1,0 %                                                        |
| <i>Til én leser</i>    |     |                                                            |     |                                                              |
| 1. oppfølging          |     |                                                            |     |                                                              |
| Leser 1 (radiologi)    | 24  | 25,0 %                                                     | —   | —                                                            |
| Leser 2 (radiologi)    | 22  | 9,1 %                                                      | —   | —                                                            |
| Enhver oppfølging      |     |                                                            |     |                                                              |
| Leser 1 (radiologi)    | 30  | 20,0 %                                                     | —   | —                                                            |
| Leser 2 (radiologi)    | 28  | 10,7 %                                                     | —   | —                                                            |
| <i>CTC rør til rør</i> |     |                                                            |     |                                                              |
| 1. oppfølging          | —   | —                                                          | 71  | 5,6 %                                                        |
| Enhver oppfølging      | —   | —                                                          | 403 | 5,5 %                                                        |

**Tabell 11** viser at variabiliteten mellom lesere av de radiologiske bestemmelsene var signifikant høyere i både første oppfølgingssykdomsvurdering og i alle etterfølgende oppfølgingssykdomsvurderinger, sammenlignet med variabiliteten mellom lesere for CTC-tellinger i samme gruppe (Fisher's  $P < 0,001$ ).

I tilfeller hvor CTC- og radiologisk vurdering var diskordante, ga CTC den mest nøyaktige vurderingen av prognosen.

## 2 Pasienter med metastatisk kolorektalkreft (MCRC)

En prospektiv klinisk test ved flere sentre ble gjennomført for å bestemme om antallet CTC forutsier sykdomsprogresjon og overlevelse. Pasienter med metastatisk kolorektalkreft med målbar sykdom ( $N=430$ ) som starter en ny behandlingslinje, ble tatt inn. Kliniske data ble analysert ut fra hensikt om behandling. Pasientdemografiinformasjon er presentert i **Tabell 12**.

Grunnlinje CTC-telling ble bestemt før initiering av en ny behandlingslinje. Oppfølgings-CTC-tellinger ble bestemt etter initiering av behandlingen ved omtrent 3 til 4 ukers intervaller. For grunnlinjeanalysen ble progresjonsfri overlevelse (PFS) målt fra tiden for grunnlinje-blodprøve til progresjonsdiagnose ved CT-skanninger og/eller kliniske tegn og symptomer, og generell overlevelse (OS) ble målt fra grunnlinjetidspunktets blodprøve til død tidspunkt. For oppfølgingsanalysene ble PFS målt fra tiden fra oppfølgingsblodprøve til diagnose av progresjon eller død, og OS ble målt fra tiden for oppfølgingsblodprøve til død tidspunkt.

**Tabell 12: MCRC-pasientdemografi**

| Kategori                      |                              | N=430 pasienter              |
|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Alder ved grunnlinje (i år)   | Middel ± std. avvik (median) | 63,0 ± 12,6 (64)             |
| År til metastase              | Middel ± std. avvik (median) | 0,9 ± 1,4 (0,1)              |
|                               | Beskrivelse av kategorier    | Antall personer (% av total) |
| Kjønn                         | Kvinne                       | 192 (45 %)                   |
|                               | Mann                         | 238 (55 %)                   |
| Rase                          | Hvit                         | 305 (71 %)                   |
|                               | Sort                         | 44 (10 %)                    |
|                               | Annet                        | 12 ( 3 %)                    |
|                               | Ukjent                       | 69 (16 %)                    |
| Grunnlinje ECOG-score         | 0                            | 196 (46 %)                   |
|                               | 1                            | 187 (43 %)                   |
|                               | 2                            | 31 ( 7 %)                    |
|                               | Ukjent                       | 16 ( 4 %)                    |
| Tumortype ved primær diagnose | Kolon                        | 292 (68 %)                   |
|                               | Rektal                       | 71 (17 %)                    |
|                               | Kolorektal                   | 66 (15 %)                    |
|                               | Ukjent                       | 1 ( 0 %)                     |
| Trinn ved primær diagnose     | 1                            | 12 ( 3 %)                    |
|                               | 2                            | 45 (11 %)                    |
|                               | 3                            | 118 (27 %)                   |
|                               | 4                            | 232 (54 %)                   |
|                               | Ukjent                       | 23 ( 5 %)                    |
| Levermetastase                | Nei                          | 117 (27 %)                   |
|                               | Ja                           | 313 (73 %)                   |
| Behandlingslinje              | 1 <sup>a</sup> linje         | 309 (72 %)                   |
|                               | 2 <sup>a</sup> linje         | 95 (22 %)                    |
|                               | 3 <sup>a</sup> linje         | 26 ( 6 %)                    |
| Behandlingstype               | Bevacizumab                  | 243 (56 %)                   |
|                               | Irinotecan                   | 103 (24 %)                   |
|                               | Oxaliplatin                  | 253 (59 %)                   |
|                               | Ukjent                       | 25 ( 6 %)                    |

## 2.1 CTC-frekvenser

Av det totale antallet på 430 MCRC-pasienter, var det 9 som hadde en grunnlinjebloodprøve og ingen oppfølgingsbloodprøver. Av disse 9 pasientene døde fire før man kunne innhente en oppfølgingsbloodprøve, to ble tatt av sin behandling på grunn av behandlingsrelatert toksitet, én pasient gjennomgikk kirurgi for å fjerne den målbare sykdommen, én pasient avsto videre behandling, og én avsto noen flere bloodprøver. Av de gjenværende pasientene fikk 362, 342, 321 og 211 tatt oppfølgingsbloodprøver henholdsvis 1–2 uker, 3–5 uker, 6–12 uker og 13–20 uker etter initieringen av behandling. Avviket i antall pasienter som kunne evalueres for PFS og OS på hvert tidspunkt skyldes progresjonen hos noen pasienter før bloodprøven, mens forskjellen i antallet pasienter på hvert tidspunkt skyldes antallet pasienter med bloodprøver og evaluerbare CTC-resultater.

**Tabell 13** viser antallet med pasienter på hvert tidspunkt som er ekskludert fra PFS-, OS- eller PFS- og OS-analyser og årsaken for ekskluderingen.

**Tabell 13: Eksklusjoner fra analyser av progresjonsfrihet og generell overlevelse hos MCRC-pasienter**

| Blodprøvetiming | Årsaker for eksklusjon av MCRC-pasienter fra analyser: |                                                             |                                           |                                 |                                                  |                                           | Totalt antall evaluerbare MCRC-pasienter: |     |
|-----------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-----|
|                 | PFS og OS                                              |                                                             |                                           |                                 | Kun PFS                                          | Kun OS                                    |                                           |     |
|                 | Blodprøve ikke tatt                                    | Blodprøve tatt 1–7 dager etter administrering av behandling | Ingen oppfølging etter dato for blodprøve | Ikke-evaluerbare CTC-resultater | Blodprøve tatt etter dato for sykdoms-progresjon | Ingen oppfølging etter dato for blodprøve | PFS                                       | OS  |
| Grunnlinje      | 1                                                      | 11                                                          | 0                                         | 5                               | 0                                                | 0                                         | 413                                       | 413 |
| 1-2 uker        | 68                                                     | 0                                                           | 0                                         | 5                               | 1                                                | 0                                         | 356                                       | 357 |
| 3-5 uker        | 88                                                     | 0                                                           | 1                                         | 8                               | 4                                                | 0                                         | 329                                       | 333 |
| 6-12 uker       | 109                                                    | 0                                                           | 4                                         | 7                               | 26                                               | 0                                         | 284                                       | 310 |
| 13-20 uker      | 219                                                    | 0                                                           | 9                                         | 8                               | 14                                               | 1                                         | 180                                       | 193 |

CTC-resultatene innhentet fra oppfølgingsbloodprøvene ved 1–2 uker, 3–5 uker, 6–12 uker og 13–20 uker etter initieringen av behandlingen, ble klassifisert å være gunstige (<3 CTC) eller ugunstige (≥3 CTC). Hvis mer enn ett

CTC-resultat ble innhentet innenfor de bestemte oppfølgingstidspunktene, ble CTC-resultatet fra blodprøven lengst unna grunnlinjebloodprøven benyttet.

**Tabell 15** gir et sammendrag av det totale antallet av MCRC-pasienter og prosenten av pasienter med ugunstig CTC i den kliniske testen som avviker fra antallet og prosenten av pasienter for progresjonsfri overlevelse vist i **Tabell 14**.

## 2.2 Analyse av progresjonsfri overlevelse (PFS) hos MCRC-pasienter

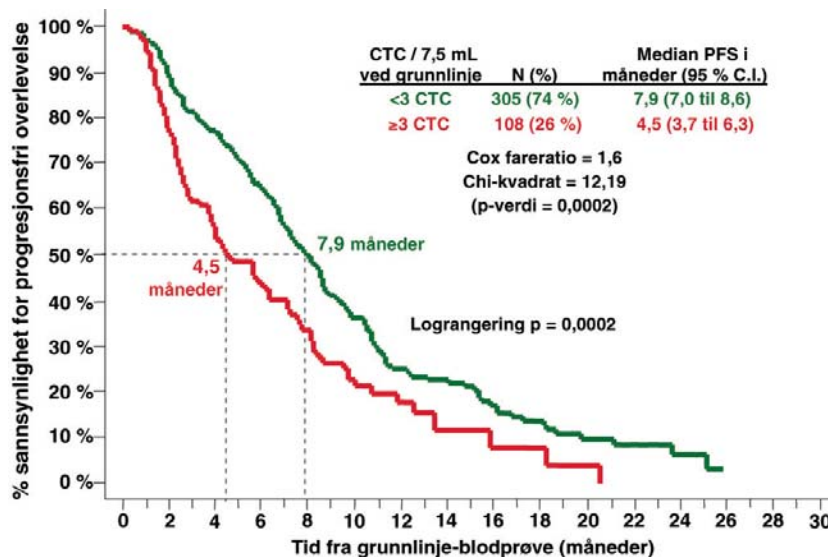
### 2.2.1 PFS ved bruk av grunnlinje CTC-resultater

Fire hundre og tretten (413) av de 430 MCRC-pasientene hadde et grunnlinje CTC-resultat tilgjengelig. For Kaplan-Meier-analyse ble pasientene segmentert inn i to grupper basert på sin CTC-telling ved grunnlinjen:

- Den gunstige gruppen (N=305, representert i **grønt**, besto av pasienter med <3 CTC.
- Den ugunstige gruppen (N=108), representert i **rødt**, besto av pasienter med ≥3 CTC.

Median PFS var signifikant lengre i den gunstige gruppen sammenlignet med den ugunstige gruppen (henholdsvis 7,9 og 4,5 måneder). Disse resultatene er illustrert i **figur 11** og **Tabell 14**.

**Figur 11: PFS hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC ved grunnlinje (N=413).**



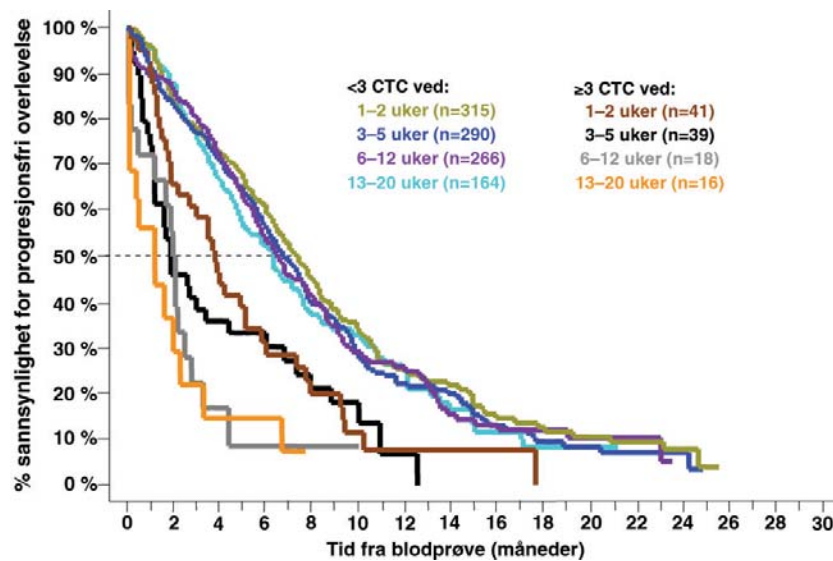
### 2.2.2 PFS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater

For Kaplan-Meier-analyse ble MCRC-pasientene segmentert i to grupper basert på deres CTC-telling ved hver av de forskjellige oppfølgingsblodprøvene. Begge pasientgruppene ved hver av de forskjellige oppfølgingsblodprøvetidspunktene etter initiering av behandlingen for PFS er illustrert i **Figur 12**. PFS-tider ble beregnet fra tidspunktet for hver blodprøve, og alle pasienter som viser tegn på progresjon før en bestemt blodprøve, ble ekskludert fra analysen av denne og alle følgende oppfølgingsblodprøver. **Figur 12** illustrerer evnen til CTC, hos MCRC-pasienter med <3 og ≥3 CTC 1–2 uker, 3–5 uker, 6–12 uker og 13–20 uker etter initiering av behandlingen, til å forutsi PFS.

- Den gunstige gruppen, representert i **olivengrønt, blått, fiolett og cyan**, besto av pasienter med <3 CTC,
- Den ugunstige gruppen, representert i **brunt, sort, grått og oransje**, besto av pasienter med ≥3 CTC.



Figur 12: PFS hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC ved forskjellige tider for oppfølging



Tabell 14 gir et sammendrag av resultatene til PFS-analysen ved bruk av CTC-nivåene og en terskel på ≥3 CTC/7,5 mL ved hver av de forskjellige blodprøvetidspunktene.

Tabell 14: Progresjonsfri overlevelse (PFS) hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC på forskjellige tidspunkter

| 1                                   | 2   | 3          | 4                              | 5               | 6                     |
|-------------------------------------|-----|------------|--------------------------------|-----------------|-----------------------|
| Prøvetakingstid etter Tx initiering | N   | ≥ 3 CTC    | Median PFS i måneder (95 % CI) |                 | Log-rangering p-verdi |
|                                     |     |            | <3 CTC                         | ≥ 3 CTC         |                       |
| Grunnlinje                          | 413 | 108 (26 %) | 7,9 (7,0 – 8,6)                | 4,5 (3,7 – 6,3) | 0,0002                |
| 1-2 uker                            | 356 | 41 (12 %)  | 7,3 (6,5 – 8,1)                | 3,8 (1,9 – 5,1) | <0,0001               |
| 3-5 uker                            | 329 | 39 (12 %)  | 6,8 (6,1 – 7,6)                | 1,9 (1,2 – 4,4) | <0,0001               |
| 6-12 uker                           | 284 | 18 ( 6 %)  | 6,5 (5,8 – 7,7)                | 2,0 (0,5 – 2,5) | <0,0001               |
| 13-20 uker                          | 180 | 16 ( 9 %)  | 6,3 (4,9 – 7,4)                | 1,2 (0,1 – 2,3) | <0,0001               |

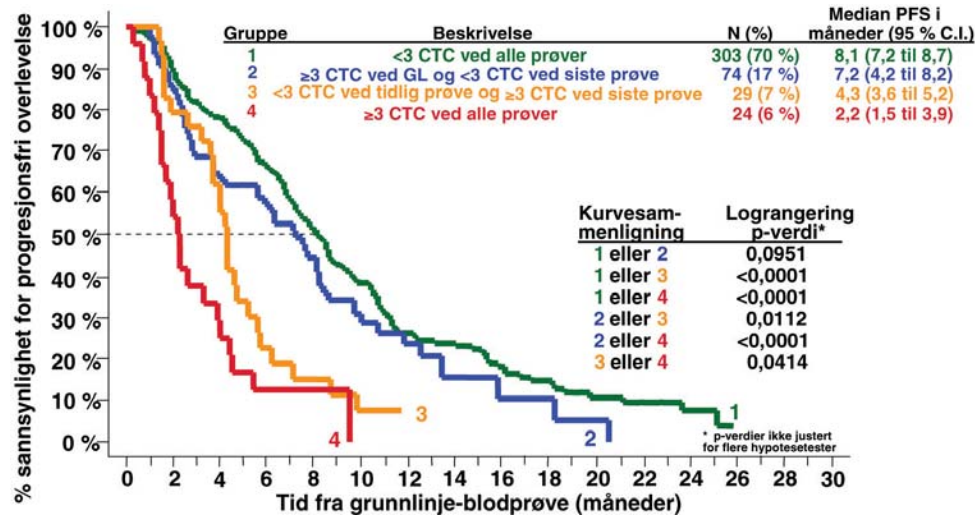
Som illustrert i **Figur 12** og **Tabell 14**, hadde MCRC pasienter med elevert CTC (≥3 CTC/7,5 mL fullblod) på ethvert tidspunkt en mye høyere sannsynlighet for hurtig progresjon enn dem med <3 CTC. **Tabell 14** kolonne 4 viser median PFS-tider for pasientene med <3 CTC rangert fra 6,3 til 7,9 måneder, og var vesentlig lengre enn median PFS-tider for pasientene med ≥3 CTC, som var rangert fra 1,2 til 4,5 måneder (kolonne 5).

### 2.2.3 Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert PFS

Utløpte PFS-tider ble beregnet fra grunnlinjebloodprøven. For Kaplan-Meier-analyse (**Figur 13**) ble MCRC-pasienter segmentert i fire grupper basert på sine CTC-tellinger ved grunnlinje, 1–2 uker, 3–5 uker, 6–12 uker og 13–20 uker etter initiering av behandlingen:

- Gruppe 1 (**grønn** kurve), 303 (70 %) pasienter med <3 CTC ved alle tidspunkter. Syv (2 %) av disse pasientene hadde kun én grunnlinjebloodprøve, mens åtte (3 %) hadde en enkelt blodprøve mellom sin første og siste blodprøve som hadde ≥3 CTC;
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 74 (17 %) pasienter med ≥3 CTC før initiering av behandling, men som hadde gått ned til <3 CTC på tidspunkt for sin siste blodprøve;
- Gruppe 3 (**oransje** kurve), 29 (7 %) pasienter med <3 CTC ved en tidlig prøve (grunnlinje, 1–2 uker og/eller 3–5 uker), men som økte til ≥3 CTC på tidspunktet for siste blodprøve;
- Gruppe 4 (**rød** kurve), 24 (6 %) pasienter med ≥3 CTC ved alle tidspunkter. Tre (13 %) av disse pasientene tok kun en grunnlinje-bloodprøve, én (4 %) hadde kun en blodprøve tatt ved 3–5 uker, og én (4 %) hadde en enkelt blodprøve tatt mellom sin første og siste blodprøve som hadde <3 CTC.

Figur 13: En reduksjon i CTC til under 3 etter initiering av behandlingen forutsier lengre PFS hos MCRC-pasienter



Figur 13 viser at MCRC-pasienter med  $\geq 3$  CTC på alle tidspunkter (gruppe 4) hadde den korteste median PFS, som var signifikant forskjellig sammenlignet med median PFS til gruppe 3, gruppe 2 og gruppe 1. Forskjellen i median PFS mellom pasientene som viste en CTC-reduksjon etter initiering av behandling (gruppe 2), var signifikant lenger sammenlignet med pasientene som viste en CTC-økning (gruppe 3).

### 2.3 Analyse av generell overlevelse (OS) hos MCRC-pasienter

#### 2.3.1 OS-analyse ved bruk av grunnlinje CTC-resultater

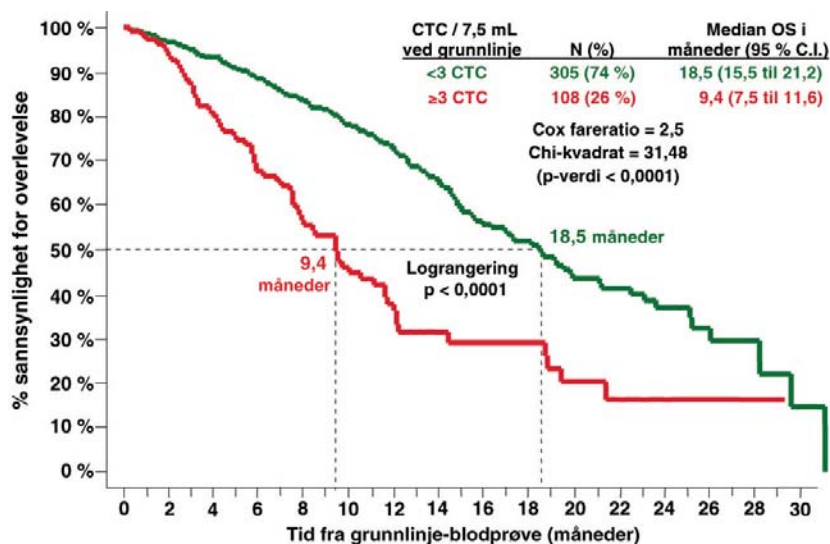
Død forekom i 202 (47 %) av de 430 MCRC-pasientene, med en middels oppfølgingstid for de 228 (53 %) pasientene som fremdeles var i live på  $12,6 \pm 6,5$  måneder (median = 11,0, område = 0,8 til 30,0). På tidspunktet for disse analysene var 124 (41 %) av 305 pasienter fra den gunstige gruppen (<3 CTC ved grunnlinje), sammenlignet med 68 (63 %) av 108 fra den ugunstige gruppen ( $\geq 3$  CTC ved grunnlinje), døde.

For Kaplan-Meier-analyse ble pasientene segmentert inn i to grupper basert på sin CTC-telling ved grunnlinjen:

- Den gunstige gruppen (N=305, representert i **grønt**, besto av pasienter med <3 CTC.
- Den ugunstige gruppen (N=108), representert i **rødt**, besto av pasienter med  $\geq 3$  CTC.

Median OS var signifikant lengre i den gunstige gruppen sammenlignet med den ugunstige gruppen (henholdsvis 18,5 og 9,4 måneder). Disse resultatene er illustrert i Figur 14

Figur 14: OS hos MCRC-pasienter med <3 eller  $\geq 3$  CTC ved grunnlinje (N=413).

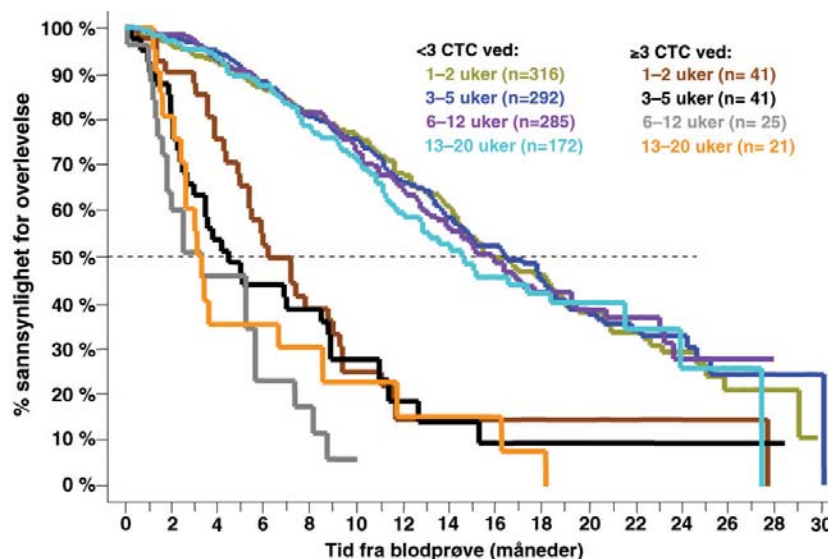


### 2.3.2 OS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater

Kaplan-Meier-analyse på begge MCRC-pasientgruppene ved hver av de forskjellige oppfølgingsblod-prøvetidspunktene etter initiering av behandlingen er illustrert i **Figur 15**. Denne figuren illustrerer evnen til CTC i MCRC-pasienter med <3 og ≥3 CTC 1–2 uker, 3–5 uker, 6–12 uker og 13–20 uker etter initiering av behandlingen, til å forutsi dødstidspunkt for 421 pasienter med metastatisk kolorektalkreft. OS-tider ble beregnet fra tidspunktet for hver blodprøve.

- Den gunstige gruppen, representert i **olivengrønt, blått, fiolett og cyan**, besto av pasienter med <3 CTC,
- Den ugunstige gruppen, representert i **brunt, sort, grått og oransje**, besto av pasienter med ≥3 CTC.

**Figur 15:** OS hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC ved forskjellige tider for oppfølging.



**Tabell 15** gir et sammendrag av resultatene til OS-analysen ved bruk av CTC-nivåene og en terskel på ≥3 CTC/7,5 mL ved hver av de forskjellige blodprøvetidspunktene.

**Tabell 15:** Generell overlevelse (OS) hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC på forskjellige tidspunkter

| 1                                   | 2   | 3          | 4                             | 5                | 6                     |
|-------------------------------------|-----|------------|-------------------------------|------------------|-----------------------|
| Prøvetakingstid etter Tx initiering | N   | ≥ 3 CTC    | Median OS i måneder (95 % CI) |                  | Log-rangering p-verdi |
|                                     |     |            | < 3 CTC                       | ≥ 3 CTC          |                       |
| Grunnlinje                          | 413 | 108 (26 %) | 18,5 (15,5 – 21,2)            | 9,4 (7,5 – 11,6) | <0,0001               |
| 1-2 uker                            | 357 | 41 (11 %)  | 15,7 (14,3 – 18,4)            | 6,1 (4,9 – 8,9)  | <0,0001               |
| 3-5 uker                            | 333 | 41 (12 %)  | 16,4 (14,1 – 18,3)            | 4,4 (2,6 – 8,7)  | <0,0001               |
| 6-12 uker                           | 310 | 25 ( 8 %)  | 15,8 (13,8 – 19,2)            | 3,3 (1,8 – 5,6)  | <0,0001               |
| 13-20 uker                          | 193 | 21 (11 %)  | 14,6 (12,0 – 21,5)            | 3,3 (2,4 – 8,5)  | <0,0001               |

Som illustrert i **Figur 15** og **Tabell 15** i kolonnene 4 og 5, hadde MCRC-pasienter med ≥3 CTC på noen av tidspunktene en mye høyere sannsynlighet for å dø tidligere enn de med <3 CTC. Median OS-tider hos pasienter med <3 CTC strakte seg fra 14,6 til 18,5 måneder, var betydelig lengre enn median OS-tider hos pasienter med ≥3 CTC, som strakte seg fra 3,3 til 9,4 måneder.

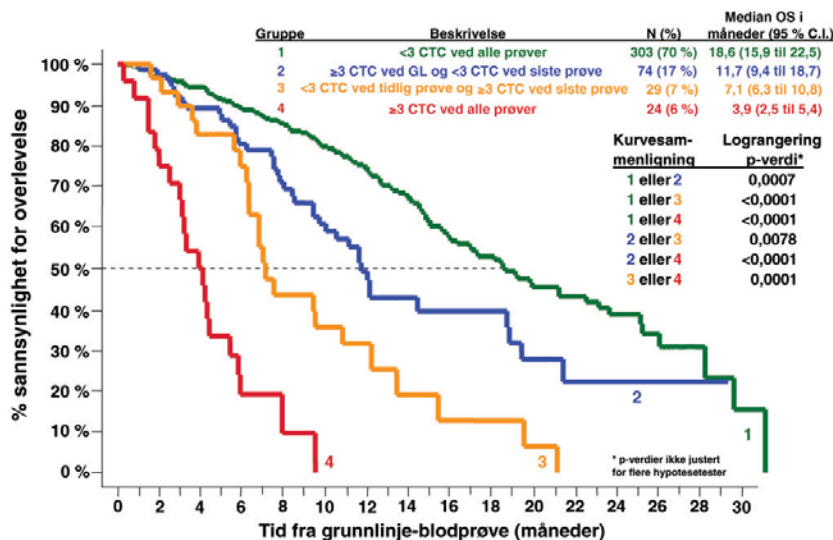
### 2.3.3 Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert OS

Utløpte OS-tider ble beregnet fra grunnlinjebloodprøven. For Kaplan-Meier-analyse (**Figur 16**) ble MCRC-pasienter segmentert i fire grupper basert på sine CTC-tellinger ved grunnlinje, 1–2 uker, 3–5 uker, 6–12 uker og 13–20 uker:

- Gruppe 1 (**grønn** kurve), 303 (70 %) pasienter med <3 CTC ved alle tidspunkter. Syv (2 %) av disse pasientene hadde kun én grunnlinjebloodprøve, mens åtte (3 %) hadde én enkelt blodprøve mellom sin første og siste blodprøve som hadde ≥3 CTC;
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 74 (17 %) pasienter med ≥3 CTC før initiering av behandling, men som hadde gått ned til <3 CTC på tidspunkt for sin siste blodprøve;
- Gruppe 3 (**oransje** kurve), 29 (7 %) pasienter med <3 CTC ved en tidlig prøve (grunnlinje, 1–2 uker og/eller 3–5 uker), men som økte til ≥3 CTC på tidspunktet for siste blodprøve;

- Gruppe 4 (rød kurve), 24 (6 %) pasienter med  $\geq 3$  CTC ved alle tidspunkter. Tre (13 %) av disse pasientene tok kun én grunnlinjebloodprøve, én (4 %) hadde kun en blodprøve tatt ved 3–5 uker, og én (4 %) hadde en enkelt blodprøve tatt mellom sin første og siste blodprøve som hadde  $< 3$  CTC.

**Figur 16:** En reduksjon i CTC til under 3 etter initieringen av behandlingen forutsier lengre OS, mens en økning i CTC-tellingen til 3 eller høyere forutsier kortere OS hos MCRC-pasienter.



**Figur 16** viser at MCRC-pasienter som overskred terskelen på 3 CTC på noe tidspunkt etter initieringen av behandlingen hadde en mye større sannsynlighet for tidligere død. Pasienter med  $\geq 3$  CTC på alle tidspunkter (**gruppe 4**) hadde den korteste median OS, som var signifikant forskjellig sammenlignet med median OS til **gruppe 3**, **gruppe 2** og **gruppe 1**. Pasienter med  $< 3$  CTC på alle tidspunkter (**gruppe 1**) hadde den lengste median OS, som var signifikant forskjellig sammenlignet med median OS til **gruppe 4**, **gruppe 3** og **gruppe 2**. **Figur 16** viser også at pasienter som viste en reduksjon i CTC (**gruppe 2**), hadde en signifikant lavere risiko for død sammenlignet med pasientene som hadde en økning i CTC (**gruppe 3**).

#### 2.3.4 Univariate Cox regresjonsanalyse hos MCRC-pasienter

Følgende parametre ble analysert med Univariate Cox regresjonsanalyse for å evaluere forbindelsen med PFS og OS: kjønn, sykdomstrinn ved diagnose (1–4), tid til metastase (kontinuerlig), pasientalder ( $\geq 65$  eller  $< 65$ ), sted for primær sykdom (kolorektal eller rektal eller kolon), ECOG-status før initiering av en behandlingslinje (0–2), behandlingslinje (1, eller 2, eller 3), forekomst av levermetastase (ja eller nei), type behandling (bevacizumab, irinotecan og/eller oxaliplatin inkludert eller ikke), grunnlinje CTC-tellinger ( $\geq 3$  eller  $< 3$  CTC/7,5 mL), og oppfølgings CTC-tellinger 1–2 uker, 3–5 uker, 6–12 uker og 13–20 uker etter initiering av behandling ( $\geq 3$  eller  $< 3$  CTC/7,5 mL). **Tabell 16** viser resultatene av denne analysen og presenterer Cox fareratio (HR) og assosiert p-verdi (Wald test av Z-statistikk) og antall pasienter i hver evaluering.

**Tabell 16: Univariate Cox regresjonsanalyse hos MCRC-pasienter**

| Parameter                      | Kategorier                                      |            | Antall MCRC-pasienter | PFS-risiko fra grunnlinje |         | OS-risiko fra grunnlinje |         |
|--------------------------------|-------------------------------------------------|------------|-----------------------|---------------------------|---------|--------------------------|---------|
|                                | Positiv                                         | Negativ    |                       | HR                        | p-verdi | HR                       | p-verdi |
| Kjønn                          | Mann (1)                                        | Kvinne (0) | 430                   | 1,01                      | 0,944   | 1,23                     | 0,156   |
| Trinn ved primær diagnose      | 4 eller 3 eller 2 eller 1                       |            | 407                   | 0,98                      | 0,734   | 1,09                     | 0,330   |
| Tid til metastase              | Tid i år                                        |            | 428                   | 1,00                      | 0,901   | 0,92                     | 0,121   |
| Alder ved grunnlinje-blodprøve | ≥ 65 år                                         | <65 år     | 430                   | 1,65                      | <0,001  | 1,82                     | <0,001  |
| Sted for primær sykdom         | Kolorektal (2) eller rektal (1) eller kolon (0) |            | 429                   | 1,03                      | 0,733   | 1,02                     | 0,866   |
| Grunnlinje ECOG-status         | 2 eller 1 eller 0                               |            | 414                   | 1,32                      | 0,002   | 1,65                     | <0,001  |
| Behandlingslinje               | 3 eller 2 eller 1                               |            | 430                   | 2,04                      | <0,001  | 1,63                     | <0,001  |
| Levermetastase                 | Ja                                              | Nei        | 430                   | 0,86                      | 0,225   | 1,23                     | 0,198   |
| Bevacizumab                    | Ja                                              | Nei        | 405                   | 0,54                      | <0,001  | 0,62                     | 0,001   |
| Irinotecan                     | Ja                                              | Nei        | 405                   | 1,51                      | 0,001   | 1,39                     | 0,029   |
| Oxaliplatin                    | Ja                                              | Nei        | 405                   | 0,53                      | <0,001  | 0,69                     | 0,008   |
| Grunnlinje CTC-antall          | ≥ 3                                             | <3         | 413                   | 1,59                      | <0,001  | 2,48                     | <0,001  |
| 1–2 uker CTC-antall            | ≥ 3                                             | <3         | 357                   | 2,02                      | <0,001  | 3,23                     | <0,001  |
| 3–5 uker CTC-antall            | ≥ 3                                             | <3         | 334                   | 2,19                      | <0,001  | 4,23                     | <0,001  |
| 6–12 uker CTC-antall           | ≥ 3                                             | <3         | 314                   | 4,59                      | <0,001  | 10,88                    | <0,001  |
| 13–20 uker CTC-antall          | ≥ 3                                             | <3         | 203                   | 5,07                      | <0,001  | 4,88                     | <0,001  |

### 2.3.5 Multivariate Cox regresjonsanalyse hos MCRC-pasienter

Multivariate Cox regresjonsanalyse ble utført for å evaluere den uavhengige forutsigelsesevnen til CTC-telling ved å justere for virkningene av de kjente viktige kliniske faktorer som er statistisk signifikante i univariate-analysen. CTC ble funnet å være sterke indikatorer for PFS og OS (**Tabell 17**).

**Tabell 17: Multivariate Cox regresjonsanalyse hos MCRC-pasienter**

| Variabel                                   | N   | PFS-risiko fra grunnlinje |         | OS-risiko fra grunnlinje |         |
|--------------------------------------------|-----|---------------------------|---------|--------------------------|---------|
|                                            |     | Fareratio                 | p-verdi | Fareratio                | p-verdi |
| Grunnlinje CTC (<3 eller ≥3)               | 373 | 1,76                      | <0,001  | 2,46                     | <0,001  |
| Alder ved grunnlinje (<65 eller ≥65)       |     | 1,47                      | 0,002   | 1,84                     | <0,001  |
| Grunnlinje ECOG-status (0 eller 1 eller 2) |     | 1,16                      | 0,107   | 1,48                     | 0,001   |
| Behandlingslinje (1. eller 2. eller 3.)    |     | 1,59                      | <0,001  | 1,41                     | 0,009   |
| Bevacizumab (nei eller ja)                 |     | 0,65                      | 0,001   | 0,68                     | 0,021   |
| Irinotecan (nei eller ja)                  |     | 0,76                      | 0,156   | 1,25                     | 0,363   |
| Oxaliplatin (nei eller ja)                 |     | 0,57                      | 0,002   | 1,00                     | 0,984   |
|                                            |     |                           |         |                          |         |
| 1–2 uker CTC (<3 eller ≥3)                 | 321 | 1,76                      | 0,003   | 2,77                     | <0,001  |
| Alder ved grunnlinje (<65 eller ≥65)       |     | 1,53                      | 0,001   | 1,85                     | <0,001  |
| Grunnlinje ECOG-status (0 eller 1 eller 2) |     | 1,26                      | 0,025   | 1,54                     | 0,001   |
| Behandlingslinje (1. eller 2. eller 3.)    |     | 1,76                      | <0,001  | 1,62                     | 0,001   |
| Bevacizumab (nei eller ja)                 |     | 0,66                      | 0,003   | 0,77                     | 0,156   |
| Irinotecan (nei eller ja)                  |     | 0,67                      | 0,066   | 1,25                     | 0,402   |
| Oxaliplatin (nei eller ja)                 |     | 0,53                      | 0,002   | 0,97                     | 0,904   |
|                                            |     |                           |         |                          |         |
| 3–5 uker CTC (<3 eller ≥3)                 | 302 | 2,35                      | <0,001  | 4,54                     | <0,001  |
| Alder ved grunnlinje (<65 eller ≥65)       |     | 1,58                      | 0,001   | 2,06                     | <0,001  |
| Grunnlinje ECOG-status (0 eller 1 eller 2) |     | 1,16                      | 0,149   | 1,33                     | 0,032   |
| Behandlingslinje (1. eller 2. eller 3.)    |     | 1,74                      | <0,001  | 1,65                     | 0,001   |
| Bevacizumab (nei eller ja)                 |     | 0,68                      | 0,007   | 0,86                     | 0,410   |
| Irinotecan (nei eller ja)                  |     | 0,58                      | 0,012   | 0,99                     | 0,966   |
| Oxaliplatin (nei eller ja)                 |     | 0,47                      | <0,001  | 0,88                     | 0,594   |
|                                            |     |                           |         |                          |         |
| 6–12 uker CTC (<3 eller ≥3)                | 279 | 3,04                      | <0,001  | 9,43                     | <0,001  |
| Alder ved grunnlinje (<65 eller ≥65)       |     | 1,43                      | 0,013   | 1,73                     | 0,005   |
| Grunnlinje ECOG-status (0 eller 1 eller 2) |     | 1,30                      | 0,027   | 1,53                     | 0,004   |
| Behandlingslinje (1. eller 2. eller 3.)    |     | 1,73                      | <0,001  | 1,20                     | 0,282   |
| Bevacizumab (nei eller ja)                 |     | 0,61                      | 0,001   | 0,82                     | 0,337   |
| Irinotecan (nei eller ja)                  |     | 0,78                      | 0,258   | 1,47                     | 0,181   |
| Oxaliplatin (nei eller ja)                 |     | 0,62                      | 0,020   | 1,35                     | 0,278   |
|                                            |     |                           |         |                          |         |
| 13–20 uker CTC (<3 eller ≥3)               | 186 | 4,50                      | <0,001  | 4,97                     | <0,001  |
| Alder ved grunnlinje (<65 eller ≥65)       |     | 1,26                      | 0,218   | 1,55                     | 0,061   |
| Grunnlinje ECOG-status (0 eller 1 eller 2) |     | 1,13                      | 0,417   | 1,13                     | 0,526   |
| Behandlingslinje (1. eller 2. eller 3.)    |     | 1,68                      | 0,004   | 1,12                     | 0,628   |
| Bevacizumab (nei eller ja)                 |     | 0,68                      | 0,058   | 0,89                     | 0,655   |
| Irinotecan (nei eller ja)                  |     | 0,73                      | 0,311   | 1,20                     | 0,636   |
| Oxaliplatin (nei eller ja)                 |     | 0,65                      | 0,135   | 1,31                     | 0,477   |

## 2.4 Bruk av CTC til overvåkning av klinisk status til metastatisk kolorektalkreft

### 2.4.1 Forhold mellom overlevelse, CTC og sykdomsvurdering med bildeteknikker

Radiologisk bildeteknikk er en av de primære metodene som brukes for å bestemme sykdomsstatus og respons på behandling av metastatiske kolorektalkreftpasienter. For å etablere forholdet til den kliniske statusen som bestemt av bildeteknikker og CTC, ble CTC målt på to forskjellige tidspunkter og bilderesultater sammenlignet 1) med den faktiske kliniske generelle overlevelsen til slutt og 2) med hverandre.



## 2.4.2 CTC

Tidligere data har vist at pasienter med metastatisk kolorektalkreft med  $\geq 3$  CTC / 7,5 mL med blod ved alle etterfølgende oppfølgingsbesøk etter initiering av behandlingen, hadde en større sannsynlighet for progressiv sykdom og redusert generell overlevelse sammenlignet med pasienter med  $< 3$  CTC / 7,5 mL med blod. CTC resultatene innhentet 3–5 uker etter initiering av behandlingen, og CTC-resultatene innhentet i løpet av  $\pm$  en måned av bildeteknisk studie, ble klassifisert som gunstige ( $< 3$  CTC) og ugunstige ( $\geq 3$  CTC). Hvis mer enn én CTC verdi ble innhentet i løpet av  $\pm$  én måned av bildeteknisk studie, ble CTC-resultatet innhentet nærmest datoen for bildeteknisk studie benyttet.

## 2.4.3 Bildeteknikk

Hver MCRC-pasient måtte ha målbar sykdom, dvs. minimum én 2 cm lesjon opp til og inkludert et maksimum på 10 slike lesjoner. Metoden for bildeteknikk for hver pasient ble bestemt av behandlende onkolog i samsvar med gjeldende standard for pleie. Enten CT eller MRI bryst, mage og bekken ble utført med det kravet at alle lesjoner sett ved grunnlinjen ble fulgt ved bruk av samme metode for alle etterfølgende bildeteknikkstudier. Bildetolkning ble utført av en sertifisert radiolog ved det deltakende stedet ved hjelp av RECIST uni-dimensjonelle kriterier for å klassifisere hver oppfølgingssykdomsvurdering som komplett respons (CR), partiell respons (PR), stabil sykdom (SD) eller progressiv sykdom (PD).

Det ble tatt bilder av hver pasient ved minimum to tidspunkter opp til 8 forskjellige tidspunkter. Disse studiene inkluderte et grunnlinjebilde, bilder ved etterfølgende intervaller på 2–3 måneder (6–12 uker), og en endelig bildeteknikkstudie når pasienten gikk ut av studien. Kopier av alle pasientens bildeteknikkstudier ble sendt til studiekoordinatoreren ved hver klinikk for arkivering med pasientens kliniske data.

Av de totalt 430 evaluerbare MCRC-pasientene som ble tatt inn i studien, hadde 28 (7 %) ikke gjennomført oppfølgende bildeteknikkstudier, 18 (4 %) døde før en oppfølgende bildeteknikkstudie kunne gjennomføres, og 384 (89 %) hadde én eller flere oppfølgings-bildeteknikkstudier utført som ble vurdert ved bruk av RECIST-kriteriene. På tidspunktet for den 1. oppfølgingen av de 384 pasientene med en oppfølgings-bildeteknikkstudie, viste 4 (1 %) en komplett respons, 117 (31 %) viste en partiell respons, 186 (48 %) hadde stabil sykdom og 77 (20 %) viste progressiv sykdom. For formålet med disse analysene ble pasienter som døde før en oppfølgende bildeteknikkstudie, ansett å ha en progressiv sykdom.

For respons på behandlingen ved første oppfølgende sykdomsvurdering, ble den gunstige gruppen definert som dem som hadde stabil sykdom (S), partiell respons (PR) eller en komplett respons (CR) etter RECIST-kriteriene (ikke-progressiv sykdom, NPD), og den ugunstige gruppen som dem med progressiv sykdom eller død (PD).

## 2.4.4 Forholdet mellom overlevelse ihht. bildeteknikk og CTC

Separate Kaplan-Meier-analyser ble utført for å sammenligne generell overlevelse til MCRC-pasienter i de gunstige ( $< 3$  CTC) og ugunstige ( $\geq 3$  CTC) gruppene ved bruk av CTC-resultater ved to forskjellige tidspunkter og første oppfølgings-bildeteknikkstudie. Ved å bruke resultater fra den første oppfølgings-bildeteknikkstudien gjennomført 9,1 $\pm$ 2,9 uker (median = 8,6 uker) etter initiering av behandling (dvs. grunnlinje-blodprøve), var median overlevelse hos de 307 (76 %) pasientene bestemt ved bildeteknologi å være NPD, 19,1 måneder (95 % CI 17,0 til 23,1) (**Figur 17, Tabell 18**). For de 95 (24 %) pasientene som ved bildeteknikk ble vurdert å være PD, var median overlevelse 5,8 måneder (95 % CI = 4,4 til 7,7).

Totalt 320 MCRC-pasienter hadde bildeteknikkstudier gjennomført før og etter initiering av behandling, eller de døde før en oppfølgings-bildestudie ble gjennomført og de hadde CTC vurdert 3–5 uker etter initiering av behandling (gjennomsnitt = 3,8 $\pm$ 0,7 uker fra tiden for grunnlinjebloodprøve, median = 4,0 uker). Median overlevelse hos 282 (88 %) pasienter med gunstige CTC-resultater ( $< 3$  CTC) var 17,3 måneder (95 % CI = 15,0 til 19,5 måneder) (**Figur 18, Tabell 18**). De 38 pasientene (12 %) med ugunstige CTC-resultater ( $\geq 3$  CTC) hadde en median overlevelse på 5,4 måneder (95 % CI = 3,6 til 9,4 måneder).

For å bestemme om CTC-vurderinger foretatt nærmere i tid til bildeteknikk-vurderingene resulterte i samme overlevelsesprospekter sammenlignet med CTC-vurderinger utført omtrent 4 uker etter initiering av behandling, ble kun pasientene med CTC-vurderinger gjennomført i løpet av  $\pm$  én måned fra første oppfølgings-bildeteknikkstudie analysert (**Figur 19, Tabell 18**). Tre hundrede og sekstifire (364) av de 402 pasientene (91 %) hadde CTC vurderinger i løpet av en måned fra første oppfølgende bildeteknikkstudie, som ble utført 9,0 $\pm$ 2,9 uker (median = 8,5 uker) etter initiering av behandlingen. Median overlevelse hos 335 (92 %) pasienter med gunstig CTC resultater var 17,2 måneder (95 % CI = 15,0 til 19,2 måneder). For de 29 (8 %) pasientene med ugunstige CTC resultater, var median overlevelse 5,4 måneder (95 % CI = 3,2 til 7,5 måneder). Disse dataene viste at CTC vurderinger på begge tidspunktene ga like resultater med bildeteknikk gjennomført omtrent ni uker etter initieringen av behandlingen.

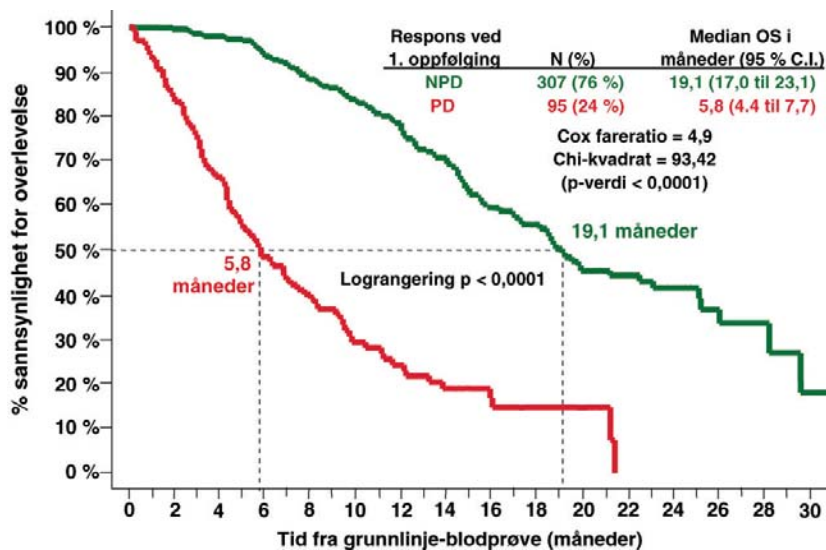
I denne studien indikerte bruk av multivariate Cox regresjonsanalyse for å justere for bildeteknikk at både CTC og bildeteknikk ved 6–12 uker er uavhengig forbundet med generell overlevelse, men CTC [justert fareratio: 7,9 (4,6–13,6)] er en sterkere indikator enn bildeteknikk [justert fareratio: 3.1 (2.1–4.6)].



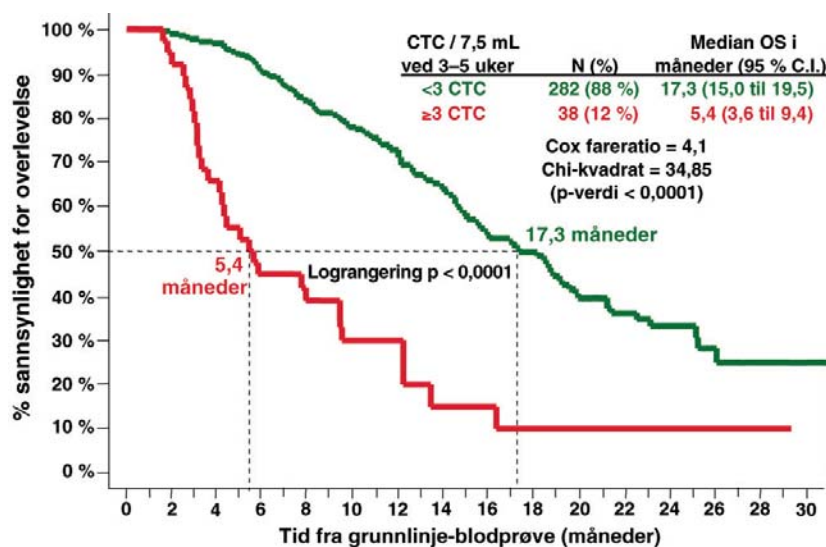
Tabell 18: OS hos MCRC-pasienter med CTC-vurdering omtrent én måned etter initiering av behandling og innenfor én måned for den radiologiske vurderingen

|                                           | N          | Median overlevelse (95 % CI) i måneder |
|-------------------------------------------|------------|----------------------------------------|
| <b>A. Bildeteknikk</b>                    | 402        |                                        |
| Gunstig (NPD)                             | 307 (76 %) | 19,1 (17,0 – 23,1)                     |
| Ugunstig (PD)                             | 95 (24 %)  | 5,8 ( 4,4 – 7,7)                       |
| <b>B. 3–5 uker CTC</b>                    | 320        |                                        |
| Gunstig (<3 CTC)                          | 282 (88 %) | 17,3 (15,0 – 19,5)                     |
| Ugunstig (≥3 CTC)                         | 38 (12 %)  | 5,4 ( 3,6 – 9,4)                       |
| <b>C. CTC (±1 måned for bildeteknikk)</b> | 364        |                                        |
| Gunstig (<3 CTC)                          | 335 (92 %) | 17,2 (15,0 – 19,2)                     |
| Ugunstig (≥3 CTC)                         | 29 ( 8 %)  | 5,4 ( 3,2 – 7,5)                       |

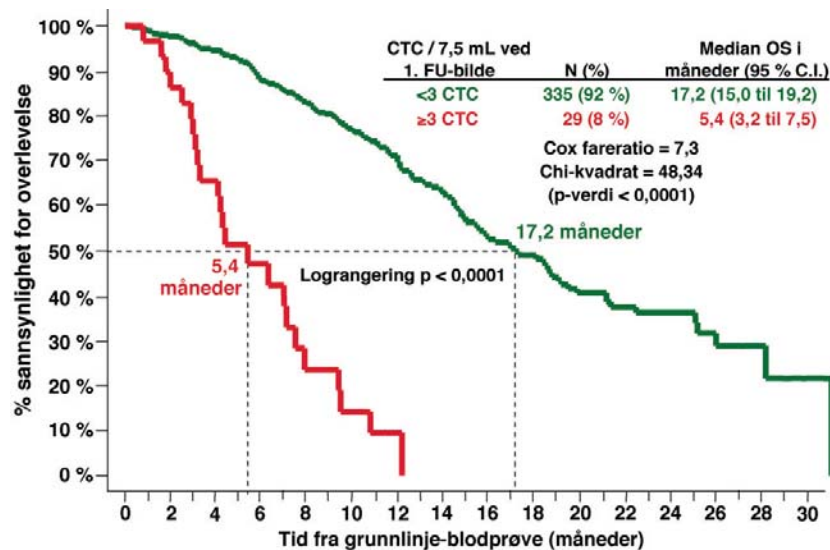
Figur 17: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MCRC-pasienter med **NPD** eller **PD** ved 1. oppfølgings-bildeteknikkstudie (N=402)



Figur 18: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC ved 1. oppfølging etter initiering av behandling (N=320)



**Figur 19: Korrelasjon av radiologisk- og CTC-vurdering med OS: OS hos MCRC-pasienter med <3 eller ≥3 CTC i løpet av ±1 måned av 1. oppfølgings-bildeteknikkstudie eller død (N=364)**



#### 2.4.5 Konkordanser mellom CTC og radiologisk overvåkning hos MCRC pasienter

Som angitt over er bildeteknikkstudier en viktig komponent i gjeldende pleiestandard for å bestemme sykdomsprogresjon og respons på behandling innen området metastatisk kolorektalkreft. For ytterligere å støtte effektiviteten til CTC når man foretar disse kliniske vurderingene, ble to ganger to tabuleringer med konkordante og diskordante observasjoner mellom CTC og radiologisk bildeteknikk konstruert.

For respons på behandlingen ble den gunstige gruppen definert som dem som hadde stabil sykdom (S), partiell respons (PR) eller en komplett respons (CR) etter RECIST-kriteriene (ikke-progressiv sykdom, NPD), og den ugunstige gruppen som dem med progressiv sykdom (PD). Av de 18 pasientene som døde før en oppfølgende bildeteknikkstudie, hadde 10 en oppfølgende blodprøve i løpet av 30 dager før død, og disse 10 pasientene ble klassifisert som å ha progressiv sykdom (PD) i forbindelse med disse sammenligningene.

CTC-resultatene innhentet i løpet av ± én måned av bildeteknikkstudien ble klassifisert som gunstige (<3 CTC) og ugunstige (≥3 CTC). Hvis mer enn én CTC-verdi ble innhentet i løpet av ±én måned av bildeteknikk studie, ble CTC resultatet innhentet nærmest datoen for bildeteknikk studie benyttet. Denne analysen brukte alle evaluerbare blodprøver fra pasientene til å matche CTC med bildeteknikkstudiene, ikke bare de som ble valgt for de bestemte tidspunktene som beskrevet i 2.1 over.

Totalt 366 MCRC-pasienter hadde CTC-resultater innenfor én måned av bildeteknikkstudier eller død. Resultatet av denne "pasientvise" sammenligningen mellom CTC og bildeteknikk er vist i **Tabell 19**.

**Tabell 19: MCRC pasientvis sammenligning av CTC og bildeteknikk**

| Respons ved 1. oppfølgings-bildeteknikkstudie | CTC innenfor ±1 måned av bildeteknikkstudie eller død |                 | Totalt     |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------|------------|
|                                               | <3 CTC / 7,5mL                                        | ≥ 3 CTC / 7,5mL |            |
| Ikke-progressiv sykdom                        | 272                                                   | 13              | 285        |
| Progressiv sykdom                             | 65                                                    | 16              | 81         |
| <b>Totalt</b>                                 | <b>337</b>                                            | <b>29</b>       | <b>366</b> |

| Måling                     | Estimat | Nedre 95 % CI | Øvre 95 % CI |
|----------------------------|---------|---------------|--------------|
| Positiv % overensstemmelse | 20%     | 12%           | 30%          |
| Negativ % overensstemmelse | 95%     | 92%           | 98%          |
| Positiv prediktiv verdi    | 55%     | 36%           | 74%          |
| Negativ prediktiv verdi    | 81%     | 76%           | 85%          |
| Generell overensstemmelse  | 79%     | 74%           | 83%          |
| Odds-forhold               | 5,2     | 2,4           | 11,2         |

Av de 384 MCRC-pasientene med én eller flere oppfølgings-bildeteknikkstudier, ble det utført totalt 911 bilde-  
 teknikkstudier som ga en brukbar radiologisk respons. Totalt 805 av de 911 (88 %) bildeteknikkstudiene hadde CTC-  
 resultater innhentet innenfor ± én måned av bildeteknikkstudien. Av de 18 pasientene som døde før en oppfølgende  
 bildeteknikkstudie, hadde 10 en oppfølgende blodprøve i løpet av 30 dager før død, og disse 10 pasientene ble klassi-  
 fisert som å ha progressiv sykdom (PD) i forbindelse med disse sammenligningene. Resultatet av denne "obser-  
 vasjonsvis" sammenligningen mellom CTC og bildeteknikk (eller død) i de 815 observasjonene er vist i **Tabell 20**.

**Tabell 20: MCRC observasjonsvis sammenligning av CTC og bildeteknikk**

| Respons ved alle oppfølgings-<br>bildeteknikkstudier | CTC innenfor ±1 måned av bildeteknikkstudie eller død |                 | Totalt     |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------|------------|
|                                                      | <3 CTC / 7,5mL                                        | ≥ 3 CTC / 7,5mL |            |
| Ikke-progressiv sykdom                               | 597                                                   | 33              | 630        |
| Progressiv sykdom                                    | 147                                                   | 38              | 185        |
| <b>Totalt</b>                                        | <b>744</b>                                            | <b>71</b>       | <b>815</b> |

| Måling                     | Estimat | Nedre<br>95 % CI | Øvre<br>95 % CI |
|----------------------------|---------|------------------|-----------------|
| Positiv % overensstemmelse | 21 %    | 15 %             | 27 %            |
| Negativ % overensstemmelse | 95 %    | 93 %             | 96 %            |
| Positiv prediktiv verdi    | 54 %    | 41 %             | 65 %            |
| Negativ prediktiv verdi    | 80 %    | 77 %             | 83 %            |
| Generell overensstemmelse  | 78 %    | 75 %             | 81 %            |
| Odds-forhold               | 4,7     | 2,8              | 7,7             |

I serieobservasjoner sammenfalt kun et mindretall av overgangene for bildeteknikkresultatene mellom ikke pro-  
 gressiv sykdom og progressiv sykdom med en matchende overgang i CTC-tellinger mellom <3 og ≥3 CTC / 7,5 mL.

Fordi den prognostiske verdien til CTC-resultatene på et tidligere tidspunkt var ekvivalente med dem til CTC resul-  
 tatet på tiden for bildene (**Figur 18** og **Figur 19**), ble det konstruert en pasientvis sammenligning ved bruk av resul-  
 tater fra kun den 1. oppfølgings-bildeteknikkstudien, gjennomført omtrent 9 uker etter initiering av behandlingen, og  
 CTC-resultatene innhentet omtrent 4 uker etter initiering av behandlingen. Totalt 320 (80 %) av de 402 pasientene  
 hadde CTC-resultater 3–5 uker etter initiering av behandlingen. Resultatet av denne "pasientvis" sammenligningen  
 mellom CTC på et tidligere tidspunkt og bildeteknikk (eller død) er vist i **Tabell 21**.

**Tabell 21: MCRC pasientvis sammenligning av CTC og bildeteknikk**

| Resposta no 1º estudo<br>imagiológico de seguimento | CTC 3–5 uker Etter initiering av behandling |                 | Totalt     |
|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------|------------|
|                                                     | <3 CTC / 7,5mL                              | ≥ 3 CTC / 7,5mL |            |
| Ikke-progressiv sykdom                              | 228                                         | 18              | 246        |
| Progressiv sykdom                                   | 54                                          | 20              | 74         |
| <b>Totalt</b>                                       | <b>282</b>                                  | <b>38</b>       | <b>320</b> |

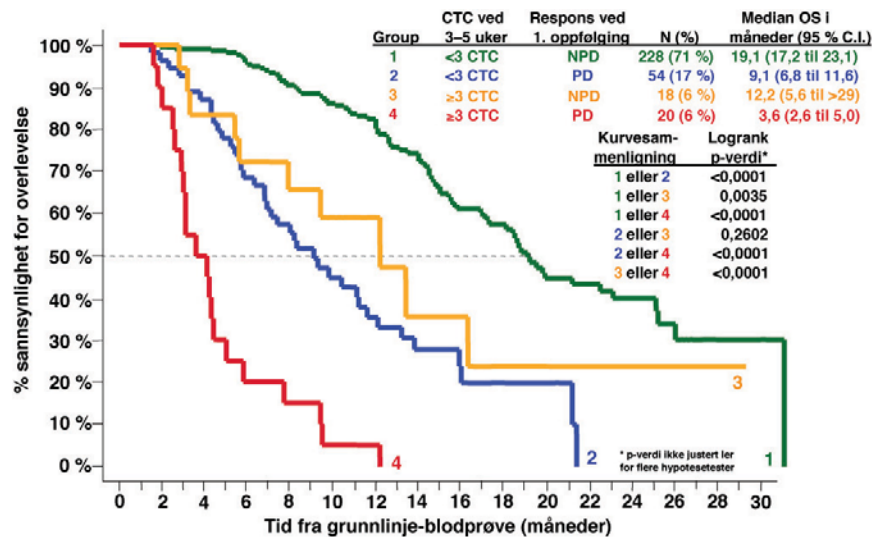
| Måling                     | Estimat | Nedre<br>95 % CI | Øvre<br>95 % CI |
|----------------------------|---------|------------------|-----------------|
| Positiv % overensstemmelse | 27 %    | 17 %             | 39 %            |
| Negativ % overensstemmelse | 93 %    | 89 %             | 96 %            |
| Positiv prediktiv verdi    | 53 %    | 36 %             | 69 %            |
| Negativ prediktiv verdi    | 81 %    | 76 %             | 85 %            |
| Generell overensstemmelse  | 78 %    | 73 %             | 82 %            |
| Odds-forhold               | 4,7     | 2,3              | 9,5             |

#### 2.4.6 CTC som et supplement til bildeteknikk

Mens den generelle overensstemmelsen mellom CTC og bildeteknikk var god (omtrent 78 %), var det manglende  
 overensstemmelse i omtrent 22 % av MCRC-pasientene. Da informasjonen fra CTC-vurderingene er ment brukt i  
 sammenheng med andre diagnostiske metoder for å ta avgjørelser om behandling, ble CTC-vurderinger ved 3–5  
 uker etter initieringen av behandlingen og bildeteknikk i de følgende gruppene sammenlignet med OS for å  
 bestemme hvilke av de diskordante resultatene som best reflekterte prognosen til pasienten (**Figur 20**):

- Gruppe 1 (**grønn** kurve), 228 (71 %) pasienter med <3 CTC ved 3–5 uker og NPD;
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 54 (17 %) pasienter med <3 CTC ved 3–5 uker og PD;
- Gruppe 3 (**oransje** kurve), 18 (6 %) pasienter med ≥3 CTC ved 3–5 uker og NPD;
- •Gruppe 4 (**rød** kurve), 20 (6 %) pasienter med ≥3 CTC ved 3–5 uker og PD.

Figur 20: OS hos MCRC-pasienter i gruppene 1, 2, 3 og 4 ved bruk CTC 3–5 uker etter initiering av behandlingen (n=320) og sykdomsstatus bestemt ved 1. oppfølging med bildeteknikkstudie



I denne studien er CTC-bestemmelsen en sterk uavhengig indikator for generell overlevelse. Studieresultatene indikerte at kombinasjonen av CTC- og radiologiske vurderinger gir den mest nøyaktige vurderingen av prognosen.

### 3 Pasienter med metastatisk prostatakreft (MPC)

En prospektiv klinisk test ved flere sentre ble gjennomført for å bestemme om antallet CTC forutsier sykdomsprogresjon og overlevelse. Metastatisk prostatakreft-pasienter i denne studien ble definert å ha to etterfølgende økninger i serummarkøren prostataspesifikt antigen (PSA) over et referansenivå, til tross for standard hormonell behandling. Disse pasientene er vanligvis beskrevet å ha androgen-uavhengig, hormon-resistent eller kastrasjon-resistent prostatakreft. Totalt 231 metastatiske prostatakreftpasienter med tegn på PSA-progresjon til tross for standard hormonell behandling og ved start av en ny linje eller type kjemoterapi ble tatt inn. Kliniske data ble analysert ut fra hensikt om behandling. Pasientdemografiinformasjon finnes i **Tabell 22**.

**Tabell 22: MPC-pasientdemografi**

| Kategori                               | Middel ± std. avvik (median)                         | Antall personer                                                            |
|----------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| Alder ved grunnlinje (i år)            | 70 ± 9 (70)                                          | 231                                                                        |
| Forbehandling:                         |                                                      |                                                                            |
| PSA (ng/mL)                            | 547 ± 1616 (144)                                     | 231                                                                        |
| Hemoglobin (g/dL)                      | 12,3 ± 1,6 (12,4)                                    | 221                                                                        |
| Alkalisk fosfatase(AlkPhos) (IE/mL)    | 235 ± 271 (144)                                      | 223                                                                        |
| Laktat dehydrogenase(LDH) (IE/mL)      | 293 ± 228 (224)                                      | 219                                                                        |
| Albumin (g/dL)                         | 3,9 ± 2,6 (3,8)                                      | 214                                                                        |
|                                        | Beskrivelse av kategorier                            | Antall personer (% av total)                                               |
| Rase                                   | Hvit<br>Sort<br>Annet                                | 209 (90 %)<br>17 ( 7 %)<br>5 ( 3 %)                                        |
| Grunnlinje ECOG-score                  | 0<br>1<br>2<br>Ukjent                                | 101 (44 %)<br>100 (43 %)<br>21 ( 9 %)<br>9 ( 4 %)                          |
| Gleason-score                          | ≥ 5<br>6<br>7<br>8<br>≥ 9<br>Ukjent                  | 18 ( 8 %)<br>28 (12 %)<br>63 (27 %)<br>45 (20 %)<br>54 (23 %)<br>23 (10 %) |
| Trinn ved primær diagnose              | 1<br>2<br>3<br>4<br>Ukjent                           | 14 ( 6 %)<br>30 (13 %)<br>58 (25 %)<br>19 ( 8 %)<br>110 (48 %)             |
| Behandlingslinje                       | 1 <sup>a</sup><br>2 <sup>a</sup><br>≥ 3 <sup>a</sup> | 154 (67 %)<br>38 (16 %)<br>39 (17 %)                                       |
| Taxotere i gjeldende behandlingslinje? | Nei<br>Ja<br>Ukjent                                  | 67 (29 %)<br>162 (70 %)<br>2 ( 1 %)                                        |
| Benmetastases                          | Negativ<br>Positiv<br>Ukjent                         | 20 ( 8 %)<br>207 (90 %)<br>4 ( 2 %)                                        |
| Målbar sykdom                          | Nei<br>Ja<br>Ukjent                                  | 142 (62 %)<br>88 (38 %)<br>1 ( 0 %)                                        |
| Innvollsmetastase                      | Nei<br>Ja<br>Ukjent                                  | 141 (61 %)<br>89 (39 %)<br>1 ( 0 %)                                        |

Grunnlinje CTC-telling ble bestemt før initiering av en ny kjemoterapilinj. De følgende tidsrammene ble valgt for evaluering: grunnlinje (for initiering av behandling), 2–5 uker (14–41 dager fra grunnlinje), 6–8 uker (42–62 dager fra grunnlinje), 9–12 uker (63–90 dager fra grunnlinje) og 13–20 uker (91–146 dager fra grunnlinje) etter initiering av behandling. Hvis mer enn en blodprøve blir tatt innenfor de angitte tidsrammene, ble blodprøven tatt lengst etter grunnlinjeblodprøve benyttet som resultat for hver tidsramme.

### 3.1 CTC-frekvenser

Alle 231 evaluerbare MPC-pasienter hadde en grunnlinje-blodprøve. To hundre og tjueen (221) av disse MPC pasienter hadde én eller flere oppfølgingsblodprøver etter initieringen av behandlingen. Av de ti MPC pasientene med kun én grunnlinjeblodprøve, døde tre før en oppfølgende blodprøve kunne bli tatt, én hadde progresjon og ble sendt til et pleiehjem, én avbrøt sin kjemoterapi på grunn av brukket lårhals, én pasient flyttet, tre avsto videre blodprøver og én trakk tilbake sitt samtykke for deltakelse i studien. Det var totalt 214, 171, 158 og 149 MPC-pasienter med oppfølgings-blodprøver ved henholdsvis 2–5 uker, 6–8 uker, 9–12 uker og 13–20 uker etter initiering av av behandlingen.

I metastatisk prostatakreft bestemmes sykdomsprogresjonen primært ved hjelp av endringer i PSA. For denne studien ble sykdomsprogresjonen på de deltakende stedene bestemt ved hjelp av PSA, bildeteknikk og/eller kliniske tegn og symptomer. For grunnlinjeanalysen ble progresjonsfri overlevelse (PFS) bestemt fra tiden til grunnlinjeblodprøven til det er fastslått progresjon eller død, og generell overlevelse (OS) ble bestemt fra tiden til grunnlinjeblodprøven til dato for død eller dato for siste kontakt med pasienten. For oppfølgingsanalysene ble PFS bestemt fra tiden fra oppfølgingsblodprøve til diagnose av progresjon eller død, og OS ble bestemt fra tiden for oppfølgings-blodprøve til dato for død eller siste kontakt med pasienten. Pasienter med progresjon før dato for blodprøve ble

evaluert, ble ekskludert fra PFS-analyse på det tidspunktet og alle etterfølgende oppfølgingsblodprøver. Pasienter uten ekstra overlevelsesoppfølging etter datoen blodprøven ble evaluert, ble ekskludert fra PFS- og OS-analyser fra dette tidspunktet. **Tabell 23** viser antall pasienter på ethvert tidspunkt ekskludert fra PFS- eller PFS- og OS-analyser og årsakene for eksklusjonene.

**Tabell 23: Eksklusjoner fra PFS- og OS-analyser hos MPC-pasienter**

| Blodprøvetiming | MPC-pasienter som ikke kan evalueres: |                                                             |                                           |                                             |                                                 | Totalt antall MPC pasienter Evaluerbare |     |
|-----------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----|
|                 | PFS og OS                             |                                                             |                                           |                                             | Kun PFS                                         |                                         |     |
|                 | Blodprøve ikke tatt                   | Blodprøve tatt 1–7 dager etter administrering av behandling | Ingen oppfølging etter dato for blodprøve | Ingen eller ikke-evaluerbare CTC-resultater | Blodprøve tatt etter dato for sykdomsprogresjon | PFS                                     | OS  |
| Grunnlinje      | 0                                     | 6                                                           | 0                                         | 6                                           | 0                                               | 219                                     | 219 |
| 2–5 uker        | 17                                    | 0                                                           | 0                                         | 11                                          | 4                                               | 199                                     | 203 |
| 6–8 uker        | 60                                    | 0                                                           | 0                                         | 8                                           | 22                                              | 141                                     | 163 |
| 9–12 uker       | 73                                    | 1                                                           | 0                                         | 8                                           | 15                                              | 134                                     | 149 |
| 13–20 uker      | 82                                    | 0                                                           | 1                                         | 5                                           | 27                                              | 116                                     | 143 |

CTC-resultatene innhentet fra grunnlinje- og oppfølgingsblodprøvene ved 2–5 uker, 6–8 uker, 9–12 uker og 13–20 uker etter initieringen av behandlingen, ble klassifisert å være gunstige (<5 CTC) eller ugunstige (≥5 CTC). Sammendrag over nivåer av PSA, alkalisk fosfatase og LDH ført i demografitabellen og benyttet i analysene, ble alle målt ved et sentralt laboratorium i serumprøver tatt samtidig med blodprøvene brukt for CTC-evaluering. Sammendrag av hemoglobin- og albuminnivåene ført i tabellene og benyttet i analysene, var verdier gitt fra behandlingsstedene og verifisert fra pasientens medisinske journaler som ble bestemt innenfor ±30 dager fra grunnlinje CTC-evaluering.

### 3.2 Analyse av progresjonsfri overlevelse (PFS) hos MPC-pasienter

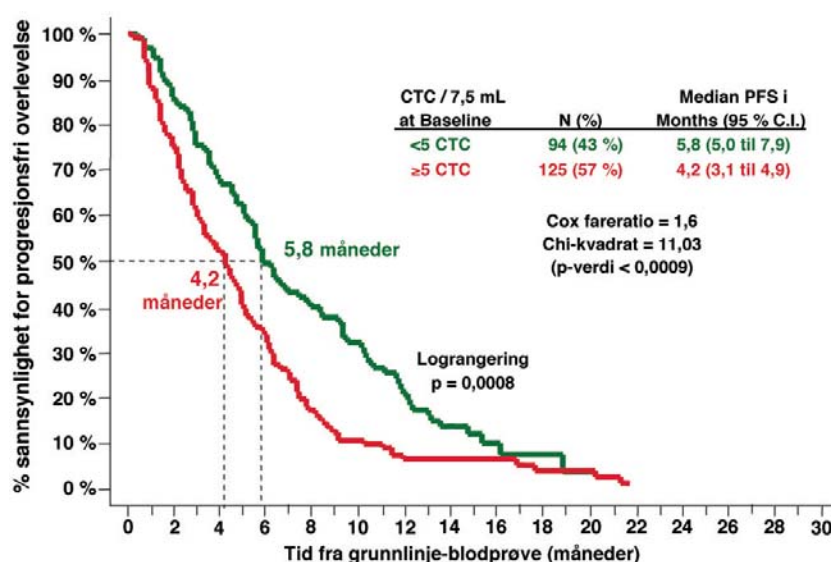
#### 3.2.1 PFS ved bruk av grunnlinje CTC-resultater

To hundre og nitten (219) av de 231 evaluerbare pasientene hadde et grunnlinje CTC-resultat tilgjengelig. For Kaplan-Meier-analyse ble pasientene segmentert inn i to grupper basert på sin CTC-telling ved grunnlinjen:

- Den gunstige gruppen (N=94), representert i **grønt**, besto av pasienter med <5 CTC.
- Den ugunstige gruppen (N=125), representert i **rødt**, besto av pasienter med ≥5 CTC.

Median PFS var signifikant lengre i den gunstige gruppen sammenlignet med den ugunstige gruppen (henholdsvis 5,8 og 4,2 måneder). Disse resultatene er illustrert i **Figur 21** og **Tabell 24**.

**Figur 21: PFS hos MPC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved grunnlinje (N=219).**



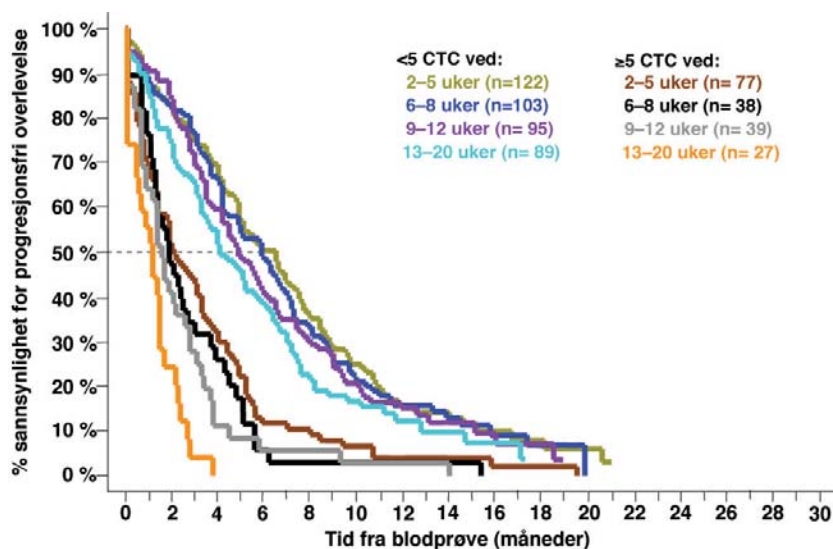


### 3.2.2 PFS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater

For Kaplan-Meier-analyse ble MPC-pasientene segmentert i to grupper basert på deres CTC-telling ved hver av de forskjellige oppfølgingsblodprøvene. Begge pasientgruppene ved hver av de forskjellige oppfølgingsblodprøvene etter initiering av behandlingen for PFS er illustrert i **Figur 22**. Denne figuren illustrerer evnen til CTC i MPC-pasienter med <5 og ≥5 CTC for å forutsi tid for klinisk progresjon eller død ved 2–5 uker (n=199), 6–8 uker (n=141), 9–12 og 13–20 uker (n=116) etter initiering av behandlingen..

- Den gunstige gruppen representert i **olivengrønt, blått, lilla** og **cyan** besto av pasienter med <5 CTC ved henholdsvis 2–5, 6–8, 9–12 og 13–20 uker etter initiering av behandlingen.
- Den ugunstige gruppen, representert i **brunt, sort, grått** og **oransje** besto av pasienter med ≥5 CTC ved henholdsvis 2–5, 6–8, 9–12 og 13–20 uker etter initiering av behandlingen

**Figur 22: PFS hos MPC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved forskjellige tider for oppfølging**



**Tabell 24** gir et sammendrag av resultatene til PFS-analysen ved bruk av CTC-nivåene og en terskel på ≥5 CTC/7,5 mL ved hver av de forskjellige blodprøvetidspunktene.

**Tabell 24: Progresjonsfri overlevelse (PFS) hos MPC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC på forskjellige tidspunkter**

| 1                                   | 2   | 3          | 4                              | 5               | 6                     |
|-------------------------------------|-----|------------|--------------------------------|-----------------|-----------------------|
| Prøvetakingstid etter Tx initiering | N   | ≥ 5 CTC    | Median PFS i måneder (95 % CI) |                 | Log-rangering p-verdi |
|                                     |     |            | <5 CTC                         | ≥ 5 CTC         |                       |
| Grunnlinje                          | 219 | 125 (57 %) | 5,8 (5,0 – 7,9)                | 4,2 (3,1 – 4,9) | 0,0008                |
| 2-5 uker                            | 199 | 77 (39 %)  | 6,5 (4,9 – 7,4)                | 2,1 (1,4 – 3,3) | <0,0001               |
| 6-8 uker                            | 141 | 38 (27 %)  | 5,9 (4,2 – 7,0)                | 1,9 (1,3 – 2,7) | <0,0001               |
| 9-12 uker                           | 134 | 39 ( 24 %) | 4,9 (3,8 – 6,2)                | 1,6 (0,9 – 2,6) | <0,0001               |
| 13-20 uker                          | 116 | 27 (23 %)  | 4,1 (3,3 – 5,8)                | 1,2 (0,5 – 1,5) | <0,0001               |

Som illustrert i **Figur 22** og **Tabell 24**, hadde MPC pasienter med elevert CTC (≥5 CTC/7,5 mL fullblod) på ethvert tidspunkt en mye høyere sannsynlighet for hurtig progresjon enn dem med <5 CTC. **Tabell 24** kolonne 4 viser median PFS-tider for pasientene med <5 CTC rangert fra 4,1 til 6,5 måneder, og var vesentlig lengre enn median PFS-tider for pasientene med ≥5 CTC, som var rangert fra 1,2 til 4,2 måneder (kolonne 5).

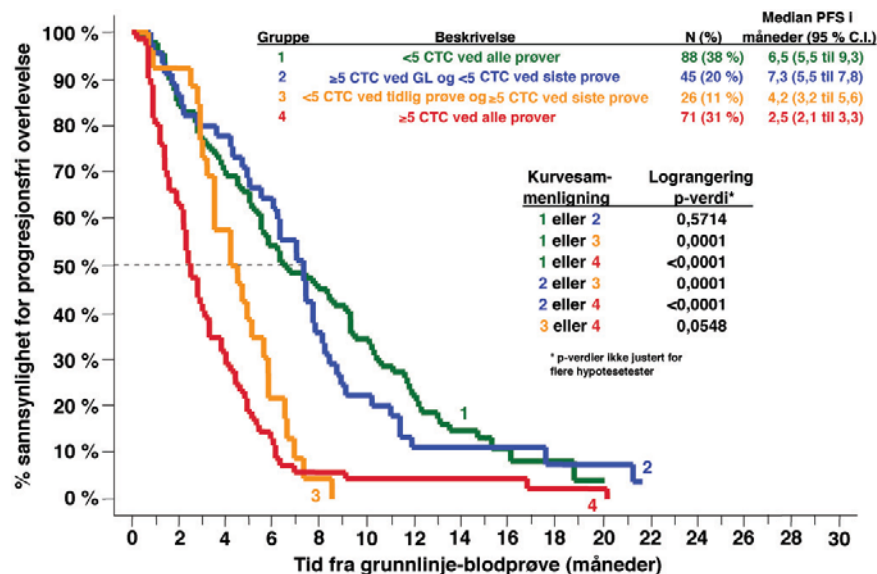
### 3.2.3 Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert PFS

Utløpte PFS-tider ble beregnet fra grunnlinjebloodprøven. For Kaplan-Meier-analyse vist i **Figur 23**, ble MPC-pasienter segmentert i fire grupper basert på sine CTC-tellinger ved grunnlinje, 2–5 uker, 6–8 uker, 9–12 uker og 13–20 uker etter initiering av behandlingen:



- Gruppe 1 (**grønn** kurve), 88 (38 %) pasienter med <5 CTC ved alle tidspunkter. Fem (6 %) av disse pasientene hadde kun én grunnlinjebloodprøve, mens syv (8 %) hadde én enkelt blodprøve mellom sin første og siste blodprøve som hadde ≥5 CTC;
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 45 (20 %) pasienter med ≥5 CTC før initiering av behandling, men som hadde gått ned til <5 CTC på tidspunkt for sin siste blodprøve;
- Gruppe 3 (**oransje** kurve), 26 (11 %) pasienter med <5 CTC ved en tidlig prøve (grunnlinje, 2–5 uker og/eller 6–8 uker), men som økte til ≥5 CTC på tidspunktet for siste blodprøve;
- Gruppe 4 (**rød** kurve), 71 (31 %) pasienter med ≥5 CTC ved alle tidspunkter. Fem (11 %) av disse pasientene hadde kun én grunnlinjebloodprøve, mens to (3 %) hadde én enkelt blodprøve mellom sin første og siste blodprøve som hadde <5 CTC;

**Figur 23:** En reduksjon i CTC under 5 etter initiering av behandlingen forutsier lengre PFS hos MPC-pasienter



**Figur 23** viser at MPC-pasienter med ≥5 CTC på alle tidspunkter (**gruppe 4**) hadde den korteste median PFS, som var signifikant forskjellig sammenlignet med median PFS til **gruppe 3**, **gruppe 2** og **gruppe 1**. Forskjellen i median PFS mellom de pasientene som viste en CTC-reduksjon etter initiering av behandling (**gruppe 2**), var signifikant lenger sammenlignet med de pasientene som viste en CTC-økning (**gruppe 3**).

### 3.3 Analyse av generell overlevelse (OS) hos MPC-pasienter

#### 3.3.1 OS-analyse ved bruk av grunnlinje CTC-resultater

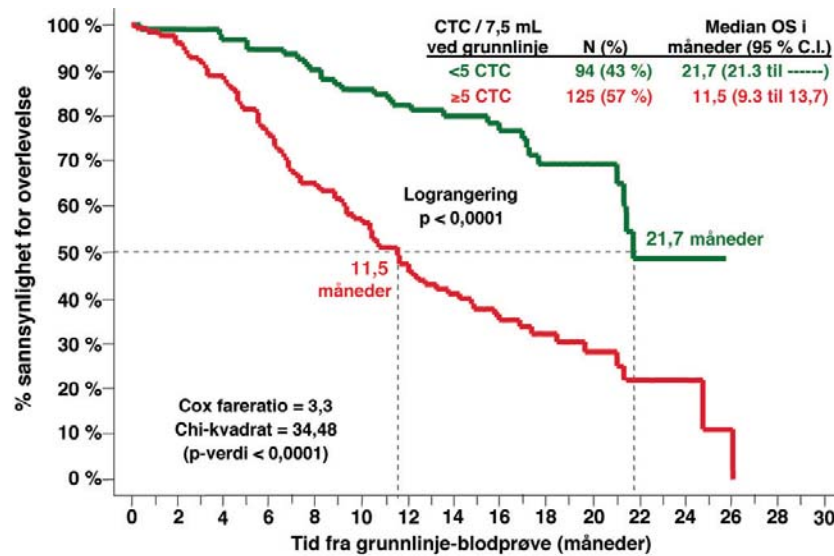
Død forekom hos 119 (52 %) av de 231 MPC-pasientene, med en middels oppfølgingstid for de 112 (48 %) pasientene som fremdeles var i live på 16,1±4,9 måneder (median = 16,5 måneder, område = 1,9 til 25,7 måneder). På tidspunktet for disse analysene var 28 (30 %) av 94 pasienter fra den gunstige gruppen (<5 CTC ved grunnlinje) sammenlignet med 83 (66 %) av 125 fra den ugunstige gruppen (≥5 CTC ved grunnlinje) døde.

For Kaplan-Meier-analyse ble 219 av de 231 evaluerbare pasientene som hadde grunnlinjeresultater segmentert i to grupper basert på sin CTC-telling ved grunnlinjen:

- Den gunstige gruppen (N=94), representert i **grønt**, besto av pasienter med <5 CTC.
- Den ugunstige gruppen (N=125), representert i **rødt**, besto av pasienter med ≥5 CTC.

Median OS var signifikant lengre i den gunstige gruppen sammenlignet med den ugunstige gruppen (henholdsvis 21,7 og 11,5 måneder). Disse resultatene er illustrert i **Figur 24**.

Figur 24: OS hos MPC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved grunnlinje (N = 219).

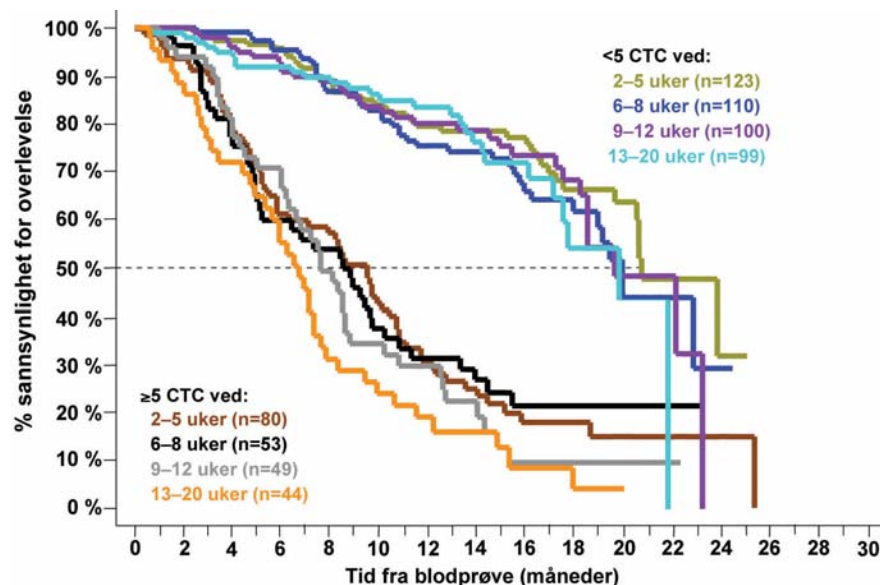


### 3.3.2 OS ved bruk av oppfølging av CTC-resultater

Kaplan-Meier-analyse på begge MPC-pasientgruppene ved hver av de forskjellige oppfølgingsblodprøvetidspunktene etter initiering av behandlingen er illustrert i **Figur 25**. Denne figuren illustrerer evnen til CTC i MPC-pasienter med <5 og ≥5 CTC for å forutsi tid for død ved 2–5 uker (n=203), 6–8 uker (n=163), 9–12 uker (n=149) og 13–20 uker (n=143) etter initiering av behandlingen. OS-tider ble beregnet fra tidspunktet for hver blodprøve.

- Den gunstige gruppen, representert i **olivengrønt**, **blått**, **fiolett** og **cyan**, besto av pasienter med <5 CTC,
- Den ugunstige gruppen, representert i **brunt**, **sort**, **grått** og **oransje**, besto av pasienter med ≥5 CTC.

Figur 25: OS hos MPC-pasienter med <5 eller ≥5 CTC ved forskjellige tider for oppfølging.



**Tabell 25** gir et sammendrag av resultatene til OS-analysen ved bruk av CTC-nivåene og en terskel på  $\geq 5$  CTC/7,5 mL ved hver av de forskjellige blodprøvetidspunktene.

**Tabell 25: Generell overlevelse (OS) hos MPC-pasienter med  $<5$  eller  $\geq 5$  CTC på forskjellige tidspunkter**

| 1                                   | 2   | 3            | 4                             | 5                 | 6                     |
|-------------------------------------|-----|--------------|-------------------------------|-------------------|-----------------------|
| Prøvetakingstid etter Tx initiering | N   | $\geq 5$ CTC | Median OS i måneder (95 % CI) |                   | Log-rangering p-verdi |
|                                     |     |              | $<5$ CTC                      | $\geq 5$ CTC      |                       |
| Grunnlinje                          | 219 | 125 (57 %)   | 21,7 (21,3 – NR)              | 11,5 (9,3 – 13,7) | $<0,0001$             |
| 2-5 uker                            | 203 | 80 (39 %)    | 20,7 (20,5 – NR)              | 9,5 (5,8 – 10,7)  | $<0,0001$             |
| 6-8 uker                            | 163 | 53 (33 %)    | 19,9 (17,9 – NR)              | 8,5 (5,0 – 10,2)  | $<0,0001$             |
| 9-12 uker                           | 149 | 49 (33 %)    | 19,6 (18,5 – NR)              | 7,6 (6,2 – 8,6)   | $<0,0001$             |
| 13-20 uker                          | 143 | 44 (31 %)    | 19,8 (17,1 – NR)              | 6,7 (4,9 – 7,6)   | $<0,0001$             |

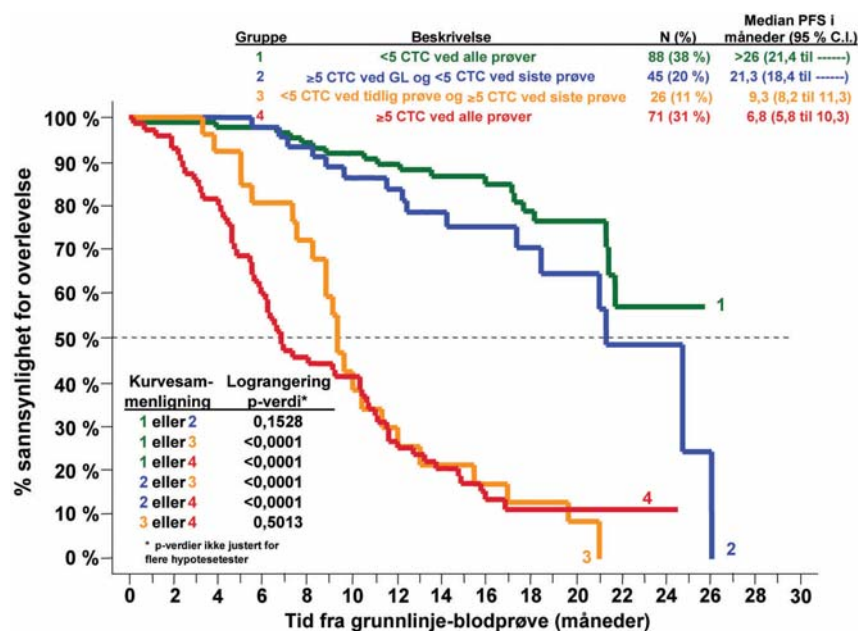
Som illustrert i **Figur 25** og **Tabell 25** i kolonnene 4 og 5, hadde MPC-pasienter med  $\geq 5$  CTC på noen av tidspunktene en mye høyere sannsynlighet for å dø tidligere enn dem med  $<5$  CTC. Median OS-tider for disse pasientene med  $<5$  CTC strakte seg fra 19,6 til 21,7 måneder var betydelig lengre enn median OS-tider for pasientene med  $\geq 5$  CTC, som strakte seg fra 6,7 til 11,5 måneder.

### 3.3.3 Reduksjon eller økning i CTC forutsier økt eller redusert OS

Utløpte OS-tider ble beregnet fra grunnlinjebloodprøven. For Kaplan-Meier-analyse (**Figur 26**) ble pasientene segmentert i fire grupper basert på sine CTC-tellinger ved grunnlinje, 2–5 uker, 6–8 uker, 9–12 uker og 13–20 uker etter initiering av behandlingen:

- Gruppe 1 (**grønn** kurve), 88 (38 %) pasienter med  $<5$  CTC ved alle tidspunkter. Fem (6 %) av disse pasientene hadde kun én grunnlinjebloodprøve, mens syv (8 %) hadde én enkelt blodprøve mellom sin første og siste blodprøve som hadde  $\geq 5$  CTC;
- Gruppe 2 (**blå** kurve), 45 (20 %) pasienter med  $\geq 5$  CTC før initiering av behandling, men som hadde gått ned til  $<5$  CTC på tidspunkt for sin siste blodprøve;
- Gruppe 3 (**oransje** kurve), 26 (11 %) pasienter med  $<5$  CTC ved en tidlig prøve, men som hadde en økning til  $\geq 5$  CTC på tidspunktet for siste blodprøve;
- Gruppe 4 (**rød** kurve), 71 (31 %) pasienter med  $\geq 5$  CTC ved alle tidspunkter. Fem (11 %) av disse pasientene hadde kun én grunnlinjebloodprøve, mens to (3 %) hadde én enkelt blodprøve mellom sin første og siste blodprøve som hadde  $<5$  CTC;

**Figur 26: En reduksjon i CTC til under 5 etter initieringen av behandlingen forutsier lengre OS, mens en økning i CTC-tellingen til 5 eller høyere forutsier kortere OS hos MPC-pasienter.**



**Figur 26** viser at de pasientene som hadde  $\geq 5$  CTC på noe tidspunkt etter initieringen av behandlingen hadde en mye større sannsynlighet for tidligere død. Pasienter med  $\geq 5$  CTC på alle tidspunkter (**gruppe 4**) hadde den korteste median OS, som var signifikant forskjellig sammenlignet med median OS til **gruppe 2** og **gruppe 1** men ikke **gruppe 3**. Pasienter med  $< 5$  CTC på alle tidspunkter (**gruppe 1**) hadde den lengste median OS, som var signifikant forskjellig sammenlignet med median OS til **gruppe 4** og **gruppe 3**, men ikke **gruppe 2**. **Figur 26** viser også at pasienter som viste en reduksjon i CTC (**gruppe 2**), hadde en signifikant lavere risiko for død sammenlignet med pasientene som hadde en økning i median OS (**gruppe 1**). Figuren viser også at ugunstige CTC-nivåer etter initieringen av behandlingen signifikant reduserte generell overlevelse (**gruppe 3** og **gruppe 4**).

### 3.3.4 Univariate Cox regresjonsanalyse hos MPC-pasienter

Univariate Cox proporsjonal fare-regresjonsanalyse ble brukt til å evaluere forbindelsen av følgende før-behandlingsparametere med PFS og OS: sykdomstrinn ved diagnose (1–4), pasientalder ( $\geq 70$  eller  $< 70$  år), ECOG-status før initiering av en ny behandlingslinje (0–2), Gleason-score (2–10), hemoglobinnivå innenfor  $\pm 30$  dager av grunnlinjeprøve (g/dL, kontinuerlig), albuminnivå innenfor  $\pm 30$  dager av grunnlinjeprøve (g/dL, kontinuerlig), testosteronnivå på tidspunktet for grunnlinjeprøve (ng/mL, kontinuerlig), LDH-nivå på tidspunktet for grunnlinjeprøve (IE/mL, kontinuerlig), alkalisk fosfatasenivå på tidspunktet for grunnlinjeprøve (IE/mL, kontinuerlig), PSA-nivå på tidspunktet for grunnlinjeprøve (ng/mL, kontinuerlig), før-behandling PSA-doblingstid (måneder, kontinuerlig), før-behandling PSA-hastighet (ng/mL/måned, kontinuerlig), behandlingslinje (1., 2., 3., 4., 5. eller 6.), behandlingstype (taxotere inkludert eller ikke), forekomst av målbar sykdom (ja eller nei), forekomst av benmetastase (ja eller nei), forekomst av innvollsmetastase (ja eller nei) og grunnlinje CTC-nivå ( $\geq 5$  CTC/7,5 mL eller  $< 5$  CTC/7,5 mL) og oppfølgende CTC-tellinger ved 2–5, 6–8, 9–12 og 13–20 uker.

For disse analysene ble de medgåtte tidene for både PFS og OS beregnet fra tiden for grunnlinjeblodprøve. Cox regresjonsresultater (dvs. fareratio og assosiert 95 % pålitelighetsintervall, chi-kvadratverdi og assosierte p-verdier) for evnen til parameterene å uavhengig forutsi PFS og OS, er gitt i **Tabell 26** sammen med antall pasienter i hver evaluering.

**Tabell 26: Univariate Cox regresjonsanalyse hos MPC-pasienter**

| Parameter                                          | Kategorier                |         | Antall MPC-pasienter | PFS-risiko fra grunnlinje |                      | OS-risiko fra grunnlinje |                      |
|----------------------------------------------------|---------------------------|---------|----------------------|---------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|
|                                                    | Positiv                   | Negativ |                      | HR                        | p-verdi <sup>2</sup> | HR                       | p-verdi <sup>2</sup> |
| Trinn ved primær diagnose                          | 4 eller 3 eller 2 eller 1 |         | 121                  | 0,88                      | 0,206                | 0,83                     | 0,174                |
| Alder ved grunnlinje-blodprøve                     | ≥ 70                      | <70     | 231                  | 0,96                      | 0,764                | 1,28                     | 0,178                |
| ECOG-status ved studiestart                        | 2 eller 1 eller 0         |         | 222                  | 1,34                      | 0,011                | 2,36                     | <0,001               |
| Gleason-score                                      | 10 a 2                    |         | 208                  | 1,01                      | 0,919                | 1,02                     | 0,717                |
| Førbehandling PSA doblingstid (måneder)            | Kontinuerlig              |         | 230                  | 0,97                      | 0,542                | 0,97                     | 0,664                |
| Førbehandling PSA-hastighet (ng/mL/måned)          | Kontinuerlig              |         | 230                  | 1,00                      | 0,200                | 1,00                     | 0,544                |
| Grunnlinje hemoglobin (g/dL)                       | Kontinuerlig              |         | 221                  | 0,87                      | 0,002                | 0,71                     | <0,001               |
| Grunnlinje albumin (g/dL)                          | Kontinuerlig              |         | 214                  | 0,99                      | 0,748                | 1,02                     | 0,557                |
| Grunnlinje testosteron (ng/mL) <sup>1</sup>        | Kontinuerlig              |         | 223                  | 1,07                      | 0,900                | 2,71                     | 0,060                |
| Grunnlinje LDH (IE/mL) <sup>1</sup>                | Kontinuerlig              |         | 219                  | 1,001                     | <0,001               | 1,002                    | <0,001               |
| Grunnlinje alkalisk fosfatase (IE/mL) <sup>1</sup> | Kontinuerlig              |         | 223                  | 1,00                      | 0,158                | 1,0008                   | 0,001                |
| Behandlingslinje                                   | Kontinuerlig (1–6)        |         | 231                  | 1,23                      | 0,003                | 1,28                     | 0,003                |
| Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nei)                 | Sim                       | Não     | 229                  | 0,57                      | <0,001               | 0,59                     | 0,006                |
| Målbar sykdom?                                     | Sim                       | Não     | 230                  | 1,00                      | 0,993                | 1,28                     | 0,181                |
| Benmetastase?                                      | Sim                       | Não     | 227                  | 1,02                      | 0,933                | 2,22                     | 0,057                |
| Innvolllsmetastase?                                | Sim                       | Não     | 230                  | 1,01                      | 0,918                | 1,26                     | 0,216                |
| Grunnlinje PSA (ng/mL) <sup>1</sup>                | Kontinuerlig              |         | 231                  | 1,00                      | 0,746                | 1,00                     | 0,907                |
| 2–5 uke PSA (ng/mL) <sup>1</sup>                   | Kontinuerlig              |         | 207                  | 1,00                      | 0,819                | 1,00                     | 0,794                |
| 6–8 uke PSA (ng/mL) <sup>1</sup>                   | Kontinuerlig              |         | 167                  | 1,00                      | 0,426                | 1,00                     | 0,654                |
| 9–12 uke PSA (ng/mL) <sup>1</sup>                  | Kontinuerlig              |         | 155                  | 1,00                      | 0,684                | 1,00                     | 0,324                |
| 13–20 uke PSA (ng/mL) <sup>1</sup>                 | Kontinuerlig              |         | 143                  | 1,00                      | 0,639                | 1,00                     | 0,205                |
| 2–5 uke PSA reduksjon fra GL (%) <sup>1</sup>      | <30%                      | ≥ 30%   | 207                  | 1,56                      | 0,006                | 1,24                     | 0,318                |
| 6–8 uke PSA reduksjon fra GL (%) <sup>1</sup>      | <30%                      | ≥ 30%   | 167                  | 2,21                      | <0,001               | 2,27                     | 0,001                |
| 9–12 uke PSA reduksjon fra GL (%) <sup>1</sup>     | <30%                      | ≥ 30%   | 155                  | 2,76                      | <0,001               | 2,30                     | <0,001               |
| 13–20 uke PSA reduksjon fra GL (%) <sup>1</sup>    | <30%                      | ≥ 30%   | 143                  | 2,69                      | <0,001               | 3,19                     | <0,001               |
| Grunnlinje CTC-antall                              | ≥ 5                       | <5      | 219                  | 1,62                      | 0,001                | 3,33                     | <0,001               |
| 2–5 uker CTC-antall                                | ≥ 5                       | <5      | 203                  | 2,34                      | <0,001               | 4,46                     | <0,001               |
| 6–8 uker CTC-antall                                | ≥ 5                       | <5      | 163                  | 3,29                      | <0,001               | 3,66                     | <0,001               |
| 9–12 uker CTC-antall                               | ≥ 5                       | <5      | 149                  | 3,23                      | <0,001               | 5,82                     | <0,001               |
| 13–20 uker CTC-antall                              | ≥ 5                       | <5      | 144                  | 4,82                      | <0,001               | 7,18                     | <0,001               |

<sup>1</sup> Bestemt fra serumprøve på samme dato som blodprøve for CTC

<sup>2</sup> p-verdi fra Wald-test av Z-statistikk

### 3.3.5 Multivariate Cox regresjonsanalyse hos MPC-pasienter

Multivariate Cox regresjonsanalyse ble utført for å evaluere den uavhengige forutsigelsesevnen til CTC-telling ved å justere for virkningene av de kjente viktige kliniske faktorer som er statistisk signifikante i univariate-analysen. CTC ble funnet å være den sterkeste indikatoren på de fleste tidspunkter for PFS og OS (**tabell 27**).

**Tabell 27: Multivariate Cox regresjonsanalyse hos MPC-pasienter**

| Parameter                                                   | Antall pasienter | PFS-risiko fra grunnlinje |                      | OS-risiko fra grunnlinje |                      |
|-------------------------------------------------------------|------------------|---------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|
|                                                             |                  | HR                        | p-verdi <sup>2</sup> | HR                       | p-verdi <sup>2</sup> |
| <b>Grunnlinje CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>                      | 188              | 1,14                      | 0,455                | 1,92                     | 0,009                |
| Grunnlinje ECOG-status (0 eller 1 eller 2)                  |                  | 1,00                      | 0,982                | 1,46                     | 0,032                |
| Grunnlinje hemoglobin (g/dL) <sup>3</sup>                   |                  | 0,88                      | 0,027                | 0,81                     | 0,007                |
| Grunnlinje LDH (IE/mL) <sup>1,3</sup>                       |                  | 1,0007                    | 0,018                | 1,002                    | <0,001               |
| Grunnlinje alkalisk fosfatase (IE/mL) <sup>1,3</sup>        |                  | ---                       | ---                  | 1,00                     | 0,410                |
| Behandlingslinje (1. til 6.)                                |                  | 1,14                      | 0,145                | 1,07                     | 0,547                |
| Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nei)                          |                  | 0,63                      | 0,009                | 0,70                     | 0,139                |
|                                                             |                  |                           |                      |                          |                      |
| <b>2–5 uker CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>                        | 173              | 1,48                      | 0,041                | 2,91                     | <0,001               |
| 2–5 uke PSA reduksjon fra grunnlinje (≥30 % eller <30 %)¹   |                  | 1,40                      | 0,077                | 1,13                     | 0,637                |
| Grunnlinje ECOG-status (0 eller 1 eller 2)                  |                  | 0,97                      | 0,836                | 1,46                     | 0,054                |
| Grunnlinje hemoglobin (g/dL) <sup>3</sup>                   |                  | 0,93                      | 0,246                | 0,89                     | 0,141                |
| Grunnlinje LDH (IE/mL) <sup>1,3</sup>                       |                  | 1,002                     | 0,002                | 1,003                    | <0,001               |
| Grunnlinje alkalisk fosfatase (IE/mL) <sup>1,3</sup>        |                  | ---                       | ---                  | 1,00                     | 0,622                |
| Behandlingslinje (1. til 6.)                                |                  | 1,11                      | 0,274                | 1,11                     | 0,399                |
| Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nei)                          |                  | 0,75                      | 0,133                | 0,80                     | 0,397                |
|                                                             |                  |                           |                      |                          |                      |
| <b>6–8 uker CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>                        | 139              | 2,14                      | <0,001               | 2,13                     | 0,009                |
| 6–8 uke PSA reduksjon fra grunnlinje (≥30 % eller <30 %)¹   |                  | 1,88                      | 0,002                | 2,38                     | 0,007                |
| Grunnlinje ECOG-status (0 eller 1 eller 2)                  |                  | 1,04                      | 0,810                | 1,52                     | 0,088                |
| Grunnlinje hemoglobin (g/dL) <sup>3</sup>                   |                  | 0,97                      | 0,695                | 0,79                     | 0,013                |
| Grunnlinje LDH (IE/mL) <sup>1,3</sup>                       |                  | 1,002                     | 0,003                | 1,004                    | <0,001               |
| Grunnlinje alkalisk fosfatase (IE/mL) <sup>1,3</sup>        |                  | ---                       | ---                  | 1,00                     | 0,780                |
| Behandlingslinje (1. til 6.)                                |                  | 1,37                      | 0,001                | 1,35                     | 0,035                |
| Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nei)                          |                  | 0,80                      | 0,278                | 1,45                     | 0,276                |
|                                                             |                  |                           |                      |                          |                      |
| <b>9–12 uker CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>                       | 125              | 1,74                      | 0,015                | 3,94                     | <0,001               |
| 9–12 uke PSA reduksjon fra grunnlinje (≥30 % eller <30 %)¹  |                  | 2,23                      | <0,001               | 1,46                     | 0,221                |
| Grunnlinje ECOG-status (0 eller 1 eller 2)                  |                  | 1,21                      | 0,307                | 1,89                     | 0,004                |
| Grunnlinje hemoglobin (g/dL) <sup>3</sup>                   |                  | 0,93                      | 0,322                | 0,97                     | 0,758                |
| Grunnlinje LDH (IE/mL) <sup>1,3</sup>                       |                  | 1,00                      | 0,190                | 1,003                    | <0,001               |
| Grunnlinje alkalisk fosfatase (IE/mL) <sup>1,3</sup>        |                  | ---                       | ---                  | 1,00                     | 0,989                |
| Behandlingslinje (1. til 6.)                                |                  | 1,25                      | 0,052                | 1,11                     | 0,499                |
| Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nei)                          |                  | 0,97                      | 0,903                | 1,26                     | 0,486                |
|                                                             |                  |                           |                      |                          |                      |
| <b>13–20 uker CTC (&lt;5 eller ≥5)</b>                      | 123              | 2,95                      | <0,001               | 3,75                     | 0,001                |
| 13–20 uke PSA reduksjon fra grunnlinje (≥30 % eller <30 %)¹ |                  | 1,97                      | 0,002                | 1,52                     | 0,275                |
| Grunnlinje ECOG-status (0 eller 1 eller 2)                  |                  | 0,98                      | 0,919                | 1,98                     | 0,002                |
| Grunnlinje hemoglobin (g/dL) <sup>3</sup>                   |                  | 1,03                      | 0,723                | 0,87                     | 0,232                |
| Grunnlinje LDH (IE/mL) <sup>1,3</sup>                       |                  | 1,00                      | 0,380                | 1,003                    | <0,001               |
| Grunnlinje alkalisk fosfatase (IE/mL) <sup>1,3</sup>        |                  | ---                       | ---                  | 1,00                     | 0,078                |
| Behandlingslinje (1. til 6.)                                |                  | 1,25                      | 0,050                | 1,06                     | 0,751                |
| Behandlingstype (Taxotere: Ja/Nei)                          |                  | 1,04                      | 0,882                | 0,90                     | 0,770                |

<sup>1</sup> Bestemt fra serumprøve på samme dato som blodprøve for CTC

<sup>2</sup> p-verdi fra Wald-test av Z-statistikk

<sup>3</sup> Vurdert som en kontinuerlig parameter



### 3.4 Bruk av CTC til overvåking av klinisk status hos pasienter med metastatisk prostatakreft

#### 3.4.1 Forhold mellom overlevelse, CTC-er og sykdomsvurdering med PSA

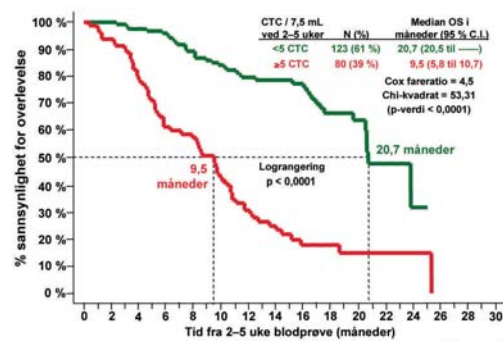
I dag er en reduksjon i PSA en av de primære metodene for å bestemme respons på behandling hos MPC-pasienter. For å etablere forholdet mellom klinisk status som bestemt av en PSA og CTC, ble reduksjon på  $\geq 30\%$  eller  $\geq 50\%$  PSA og CTC målt ved 2–5 uker, 6–8 uker, 9–12 uker og 13–20 uker etter initiering av behandling og sammenlignet med generell overlevelse.

For Kaplan-Meier-analysen ble de forløpte OS-tidene beregnet fra tidspunktet for blodprøve. Pasienter ble segmentert i gunstige grupper basert på en CTC på  $<5$  på tidspunktet for evaluering og en  $\geq 30\%$  reduksjon av PSA fra grunnlinje til tiden for evaluering. Pasienter ble segmentert i ugunstige grupper basert på en CTC på  $\geq 5$  og  $<30\%$  reduksjon av PSA fra grunnlinje til tiden for evaluering.

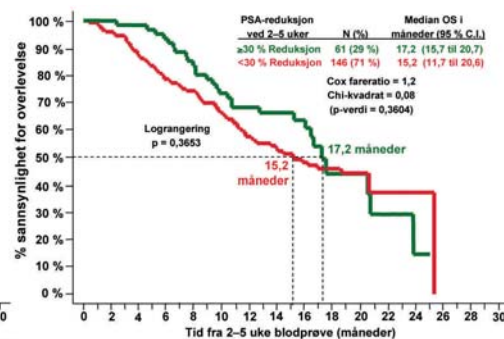
**Figur 27** viser resultatene av analysen 2–5 uker etter initiering av behandlingen, **Figur 28** viser analysen 6–8 uker etter initiering av behandlingen, **Figur 29** viser analysen 9–12 uker etter initiering av behandlingen og **Figur 30** viser analysen 13–20 uker etter initiering av behandlingen.

**Figur 27: OS hos MPC-pasienter 2–5 uker etter initiering av behandlingen**

##### A. 2–5 uker CTC

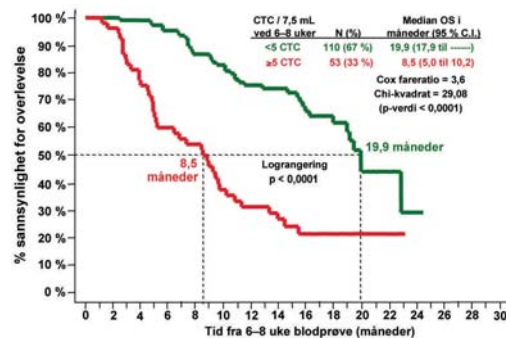


##### B. $\geq 30\%$ PSA-reduksjon ved 2–5 uker

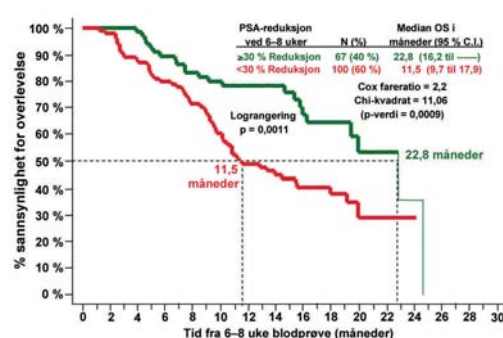


**Figur 28: OS hos MPC-pasienter 6–8 uker etter initiering av behandlingen**

##### A. 6–8 uker CTC



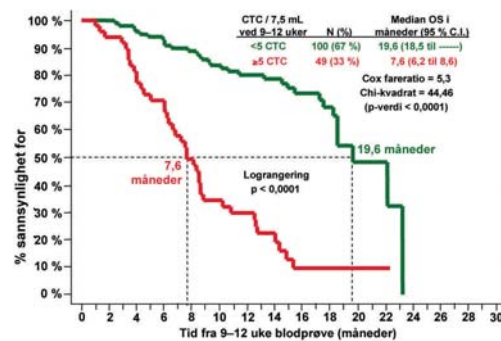
##### B. $\geq 30\%$ PSA-reduksjon ved 6–8 uker



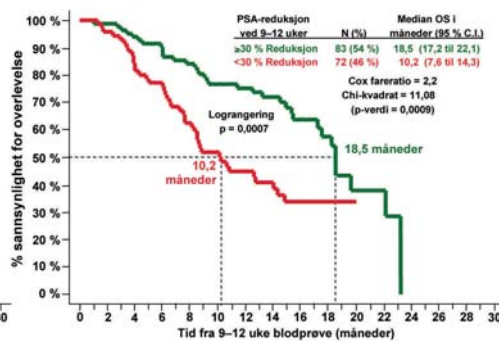


Figur 29: OS hos MPC-pasienter 9–12 uker etter initiering av behandlingen

A. 9–12 uker CTC

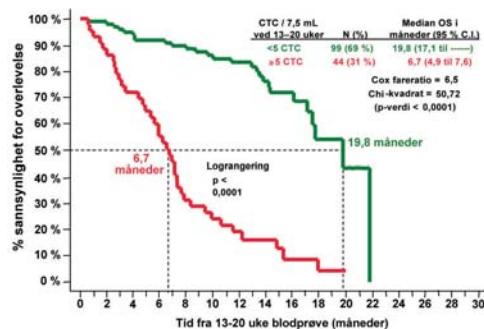


B.  $\geq 30$  % PSA-reduksjon ved 9–12 uker

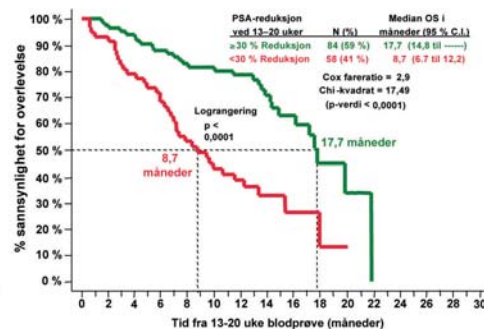


Figur 30: OS hos MPC-pasienter 13–20 uker etter initiering av behandlingen

A. 13–20 uker CTC



B.  $\geq 30$  % PSA-reduksjon ved 13–20 uker



Tabell 28 illustrerer sammenligningen av median generell overlevelse på forskjellige tidspunkter etter behandlingen med CTC, en 30 % PSA-reduksjon og en 50 % PSA-reduksjon.

Tabell 28: Sammenligning av median OS mellom gunstige og ugunstige grupper for CTC og PSA-reduksjon.

| Tids-punkt | CTC / 7,5mL |        |           |     |                              |     | 30 % PSA-reduksjon fra grunnlinje |         |           |      |                              |     | 50 % PSA-reduksjon fra grunnlinje |         |           |      |                              |     |
|------------|-------------|--------|-----------|-----|------------------------------|-----|-----------------------------------|---------|-----------|------|------------------------------|-----|-----------------------------------|---------|-----------|------|------------------------------|-----|
|            | N           | ≥5 (%) | Median OS |     | Lograng-<br>ering<br>p-verdi | HR  | N                                 | <30 (%) | Median OS |      | Lograng-<br>ering<br>p-verdi | HR  | N                                 | <50 (%) | Median OS |      | Lograng-<br>ering<br>p-verdi | HR  |
|            |             |        | <5        | ≥5  |                              |     |                                   |         | ≥30%      | <30% |                              |     |                                   |         | ≥50%      | <50% |                              |     |
| 2-5 uker   | 203         | 39 %   | 20,7      | 9,5 | <0,0001                      | 4,5 | 207                               | 71 %    | 17,2      | 15,2 | 0,3653                       | 1,2 | 207                               | 83 %    | 17,5      | 16,2 | 0,5599                       | 1,2 |
| 6-8 uker   | 163         | 33 %   | 19,9      | 8,5 | <0,0001                      | 3,6 | 167                               | 60 %    | 22,8      | 11,5 | 0,0011                       | 2,2 | 167                               | 75 %    | 22,8      | 14,4 | 0,0117                       | 2,1 |
| 9-12 uker  | 149         | 33 %   | 19,6      | 7,6 | <0,0001                      | 5,3 | 155                               | 46 %    | 18,5      | 10,2 | 0,0007                       | 2,2 | 155                               | 59 %    | 19,6      | 10,8 | 0,0006                       | 2,3 |
| 13-20 uker | 143         | 31 %   | 19,8      | 6,7 | <0,0001                      | 6,5 | 142                               | 41 %    | 17,7      | 8,7  | <0,0001                      | 2,9 | 142                               | 46 %    | 17,7      | 9,9  | 0,0001                       | 2,6 |

Dataene i Figur 27 til Figur 30 og i tabell 28, illustrerer en svært signifikant forskjell i generell overlevelse mellom pasienter med ugunstig CTC og gunstig CTC på alle tidspunkter som ble testet, mens PSA-evalueringer ikke var signifikante før 6–8 uker etter initieringen av behandlingen. Selv om forskjellen i median OS mellom gunstige ( $\geq 30$  % eller  $\geq 50$  % PSA reduksjon fra grunnlinje) og ugunstige ( $< 30$  % eller  $< 50$  % PSA-reduksjon fra grunnlinje) PSA-reduksjonsgrupper var signifikant, virket separasjonen mellom gunstige ( $< 5$  CTC) og ugunstige ( $\geq 5$  CTC) CTC grupper større og var signifikant på alle tidspunkter etter initieringen av behandlingen.

### 3.4.2 Konkordanser mellom endringer i CTC og PSA hos MPC-pasienter

I dag brukes vanligvis enten en  $\geq 30$  % eller  $\geq 50$  % reduksjon i PSA for å evaluere sykdomsprogresjon hos pasienter med metastatisk prostatakreft. For å etablere forholdet mellom CTC og endringer i PSA ble det derfor konstruert to ganger to tabuleringer av konkordante og diskordante observasjoner mellom CTC og PSA-endringer for hvert tidspunkt etter initieringen av behandlingen. Selv om sammenligninger av CTC med PSA-endring ble beregnet ved begge størrelsene, ble kun data fra CTC eller  $\geq 30$  % PSA-endring rapportert. Denne avgjørelsen ble basert på en nylig publikasjon (*J Nat Ca Inst.* 98 (8):p.516-521, 2006) som viste at en 3-måneders 30 % PSA-reduksjon viste en sterkere assosiasjon med reduksjon i risiko for død enn en 50 % reduksjon i PSA. Videre viste ikke en sammenligning av pasientvise og observasjonsvise resultater fra PSA-nedgangen på 30 % og 50 % i forhold til CTC analyser betydelig forskjeller i positiv % overensstemmelse, negativ % overensstemmelse og generell overensstemmelse på noen av de observerte tidspunktene.

Totalt 197, 159, 146 og 138 pasienter fikk serumprøver analysert av det sentrale laboratoriet, og hadde evaluerbare CTC-resultater henholdsvis 2–5 uker, 6–8 uker, 9–12 uker og 13–20 uker etter initiering av behandlingen. For å bestemme en pasients respons på behandlingen, ble prosentendring i PSA fra grunnlinje verdien beregnet for hvert av tidspunktene etter initiering av behandlingen. For PSA-endringer på hvert tidspunkt ble den gunstige gruppen definert som pasienter med en  $\geq 30$  % reduksjon i PSA og den ugunstige gruppen ble definert som pasienter med en  $< 30$  % reduksjon i PSA. For CTC på hvert tidspunkt ble den gunstige gruppen definert som pasienter med  $< 5$  CTC per 7,5 mL blod og den ugunstige gruppen ble definert som pasienter med  $\geq 5$  CTC.

Siden CTC- i forhold til PSA-resultater til de pasientvis sammenligningene mellom CTC og en  $\geq 30$  % PSA-reduksjon ved 2–5 og 13–20 uker etter initiering av behandlingen viste de henholdsvis mest signifikante diskordansene og konkordansene, er disse dataene presentert i henholdsvis **Tabell 29** og **Tabell 30**.

**Tabell 29: MPC pasientvis sammenligning av CTC og 30 % PSA-reduksjon ved 2–5 uker**

| % reduksjon i PSA fra grunnlinje ved 2–5 uker etter initiering av behandling | CTC-er 2–5 uker etter initiering av behandling |                      | Totalt     |
|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------|------------|
|                                                                              | $< 5$ CTC / 7,5mL                              | $\geq 5$ CTC / 7,5mL |            |
| $\geq 30$ % reduksjon i PSA                                                  | 50                                             | 11                   | <b>61</b>  |
| $< 30$ % reduksjon i PSA                                                     | 69                                             | 67                   | <b>136</b> |
| <b>Totalt</b>                                                                | <b>119</b>                                     | <b>78</b>            | <b>197</b> |

| Måling                     | Estimat | Nedre 95 % CI | Øvre 95 % CI |
|----------------------------|---------|---------------|--------------|
| Positiv % overensstemmelse | 49 %    | 41 %          | 58 %         |
| Negativ % overensstemmelse | 82 %    | 70 %          | 91 %         |
| Positiv prediktiv verdi    | 86 %    | 76 %          | 93 %         |
| Negativ prediktiv verdi    | 42 %    | 33 %          | 51 %         |
| Generell overensstemmelse  | 59 %    | 52 %          | 66 %         |
| Odds-forhold               | 4,4     | 2,1           | 9,2          |

**Tabell 30: MPC pasientvis sammenligning av CTC og 30 % PSA-reduksjon ved 13–20 uker**

| % reduksjon i PSA fra grunnlinje ved 13–20 uker etter initiering av behandling | CTC 13–20 uker etter initiering av behandling |              | Totalt     |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------|------------|
|                                                                                | $< 5$ CTC                                     | $\geq 5$ CTC |            |
| $\geq 30$ % reduksjon i PSA                                                    | 72                                            | 9            | <b>81</b>  |
| $< 30$ % reduksjon i PSA                                                       | 23                                            | 34           | <b>57</b>  |
| <b>Totalt</b>                                                                  | <b>95</b>                                     | <b>43</b>    | <b>138</b> |

| Måling                     | Estimat | Nedre 95 % CI | Øvre 95 % CI |
|----------------------------|---------|---------------|--------------|
| Positiv % overensstemmelse | 60 %    | 46 %          | 72 %         |
| Negativ % overensstemmelse | 89 %    | 80 %          | 95 %         |
| Positiv prediktiv verdi    | 79 %    | 64 %          | 90 %         |
| Negativ prediktiv verdi    | 76 %    | 66 %          | 84 %         |
| Generell overensstemmelse  | 77 %    | 69 %          | 84 %         |
| Odds-forhold               | 11,8    | 4,9           | 28,3         |

Resultatene av en "observasjonsvis" sammenligning av CTC og PSA-endringer ved bruk av en  $\geq 30$  % reduksjonsterskel ved 2–5 uker, 6–8 uker, 9–12 uker og 13–20 uker etter initiering av behandling kombinert, er vist i **Tabell 31**.

**Tabell 31: MPC observasjonsvis sammenligning av CTC og 30 % PSA-reduksjon.**

| % reduksjon i PSA fra grunnlinje etter initiering av behandling | CTC etter initieringen av behandling |              | Totalt     |
|-----------------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------|------------|
|                                                                 | $< 5$ CTC                            | $\geq 5$ CTC |            |
| $\geq 30$ % reduksjon i PSA                                     | 243                                  | 41           | <b>284</b> |
| $< 30$ % reduksjon i PSA                                        | 175                                  | 181          | <b>356</b> |
| <b>Totalt</b>                                                   | <b>418</b>                           | <b>222</b>   | <b>640</b> |

| Måling                     | Estimat | Nedre 95 % CI | Øvre 95 % CI |
|----------------------------|---------|---------------|--------------|
| Positiv % overensstemmelse | 51 %    | 46 %          | 56 %         |
| Negativ % overensstemmelse | 86 %    | 81 %          | 89 %         |
| Positiv prediktiv verdi    | 82 %    | 76 %          | 86 %         |
| Negativ prediktiv verdi    | 58 %    | 53 %          | 63 %         |
| Generell overensstemmelse  | 66 %    | 62 %          | 70 %         |
| Odds-forhold               | 6,1     | 4,1           | 9,1          |

Den generelle konkordansen mellom CTC og PSA-endringer ved de forskjellige tidspunktene etter initieringen av behandlingen strakte seg fra 59 % til 77 % ved sammenligning med en  $\geq 30$  % PSA-reduksjon, og fra 52 % til 75 % ved sammenligning med en  $\geq 50$  % PSA-reduksjon, hvilket viste at det var diskordans mellom CTC og PSA-endringer hos ~25 % til 40 % av pasientene.

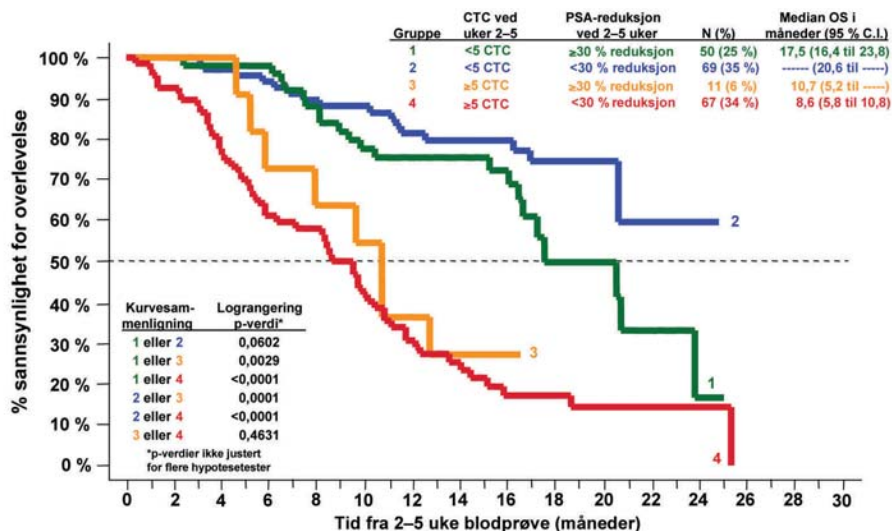
### 3.4.3 CTC-nivåer og PSA-reduksjon kombinert for å forutsi OS hos MPC pasienter

For å bestemme hvilke av de diskordante resultatene som best reflekterte pasientens prognose, ble CTC-vurderinger og endringer i PSA 2–5 uker, 6–8 uker, 9–12 uker og 13–20 uker etter initiering av behandling sammenlignet med generell overlevelse. Utløpte OS-tider ble beregnet fra evaluering av blodprøven. For Kaplan-Meier-analyse vist i **Figur 31 (panelene A, B, C og D)**, ble pasienter segmentert i fire grupper basert på sine CTC-tellinger og PSA-reduksjon ved henholdsvis 2–5 uker, 6–8 uker, 9–12 uker og 13–20 uker etter initiering av behandlingen:

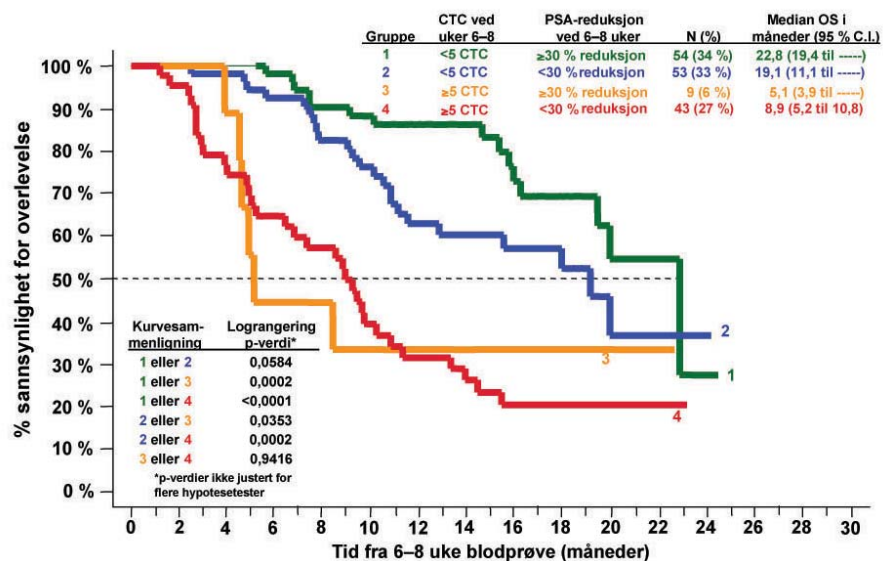
- Gruppe 1 (**grønn** kurve), pasienter med  $<5$  CTC på tiden for evaluering og en  $\geq 30$  % reduksjon av PSA fra grunnlinje til tiden for evaluering;
- Gruppe 2 (**blå** kurve), pasienter med  $<5$  CTC på tiden for evaluering og en  $<30$  % reduksjon av PSA fra grunnlinje til tiden for evaluering;
- Gruppe 3 (**oransje** kurve), pasienter med  $\geq 5$  CTC på tiden for evaluering og en  $\geq 30$  % reduksjon av PSA fra grunnlinje til tiden for evaluering;
- Gruppe 4 (**rød** kurve), pasienter med  $\geq 5$  CTC på tiden for evaluering og en  $<30$  % reduksjon av PSA fra grunnlinje til tiden for evaluering.

**Figur 31: CTC-nivåer og PSA-endringer kombinert for å forutsi OS 2–5 uker (panel A), 6–8 uker (panel B), 9–12 uker (panel C) og 13–20 uker (panel D) etter initiering av behandlingen**

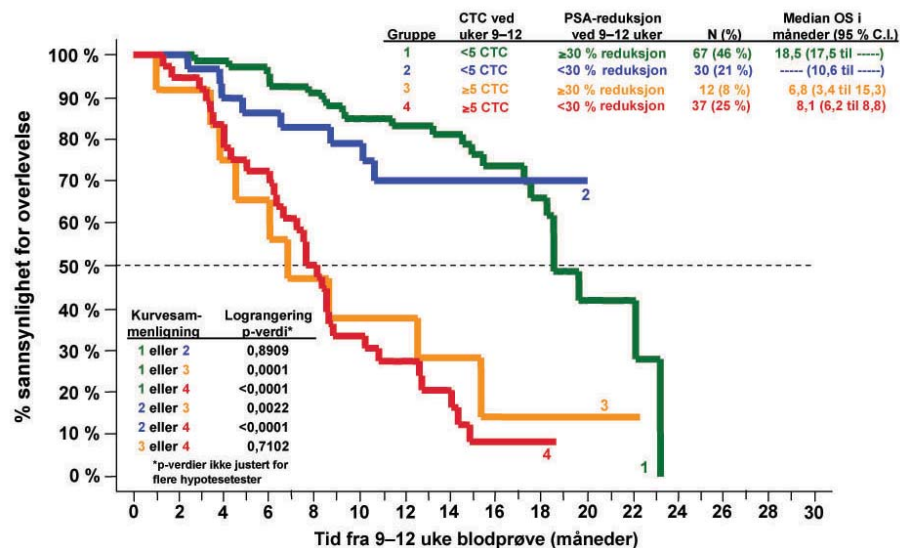
#### A. 2–5 uker



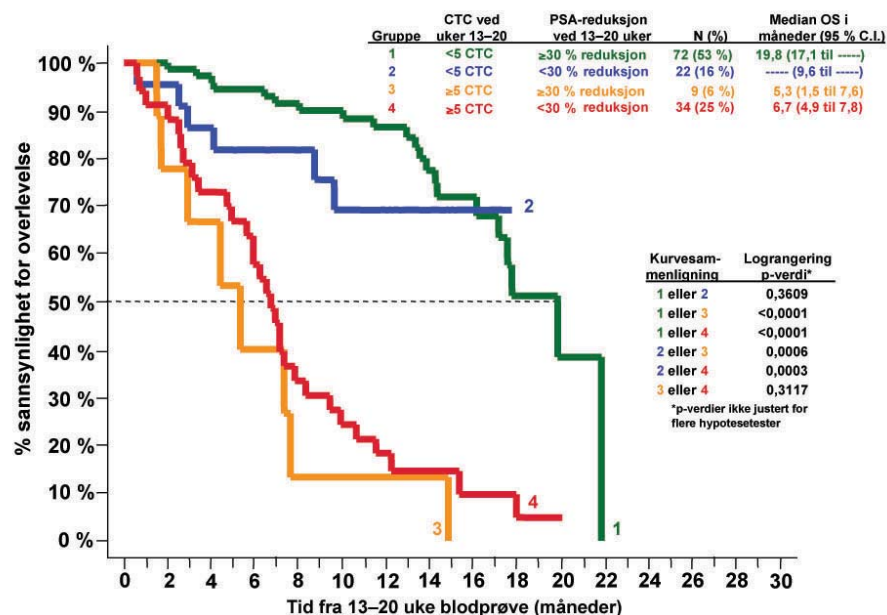
#### B. 6–8 uker



### C. 9–12 uker



### D. 13–20 uker



**Figur 31** viser at de pasientene som hadde ≥5 CTC på noe tidspunkt etter initieringen av behandlingen, hadde en mye større sannsynlighet for tidligere død, uavhengig av endringene i PSA-nivåer fra grunnlinjen. Pasienter med ≥5 CTC ved alle tidspunkter (**gruppe 3** og **gruppe 4**) hadde den korteste median generelle overlevelsen, som ikke var signifikant forskjellig. Likevel var median OS for disse to gruppene signifikant forskjellig sammenlignet med median OS hos pasientene med <5 CTC til ethvert tidspunkt (**gruppe 1** og **gruppe 2**). Disse to gruppene (**gruppe 1** og **gruppe 2**) hadde den lengste median generelle overlevelsen, som ikke var signifikant forskjellig. De viktige funnene illustrert i **Figur 31** er at selv om en reduksjon av PSA på noen punkter etter initiering av behandlingen kan nå signifikans for forutsigelse av overlevelse, var gunstig CTC på noe tidspunkt mer nøyaktig enn PSA-evaluering. Den praktiske implikasjonen er bruken av CTC-analyse for evaluering av sannsynligheten for overlevelse av MPC pasienter. I tilfeller hvor CTC og PSA-endring var diskordante, ga CTC den mest nøyaktige vurderingen av prognosen.

## REVISJONSHISTORIKK

| Revisjonsdato | Komponentkode | Beskrivelse av tekniske endringer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|---------------|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2013-08-29    | e631600001_NO | <p>Teknisk ekvivalent til e631500023_NO med følgende endringer:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tilordnet et nytt delenummer</li> <li>• Oppdaterte til forretningsinformasjonen til Janssen, deriblant: <ul style="list-style-type: none"> <li>– Janssen-logo</li> <li>– Produksjonsadresse</li> <li>– Adresse til europeisk representant</li> <li>– Telefonnummer</li> <li>– Nettsted</li> </ul> </li> <li>• Fjernet alle forekomster av CELLSPOTTER® Analyzer</li> <li>• Oppdaterte alle forekomster av CELLSEARCH® Conical Tube til CELLSEARCH® Conical Centrifuge Tubes (15 mL)</li> <li>• Oppdaterte alle forekomster av CELLSEARCH® Kit til CELLSEARCH® CTC Kit</li> <li>• I delen <b>TOLKNING AV RESULTATER</b>: <ul style="list-style-type: none"> <li>– Oppdaterte informasjon om celleoverdraging til «5000 eller mer»</li> </ul> </li> <li>• I delen <b>Janssen Technical &amp; Customer Support</b>: <ul style="list-style-type: none"> <li>– Oppdaterte alle forekomster av Veridex, LLC til Janssen Diagnostics, LLC</li> <li>– Amerikansk patenterklæring oppdatert</li> </ul> </li> <li>• I delen <b>FORKLARING AV SYMBOLER</b>: <ul style="list-style-type: none"> <li>– La til symbolet for produksjonsdato og teksten «Produksjonsdato»</li> </ul> </li> <li>• Oppdaterte revisjonsdatoen</li> </ul> |



### Janssen Technical & Customer Support

#### Janssen Diagnostics, LLC

700 US Highway Rte 202 South

Raritan, NJ 08869-0606 USA

documents.cellsearchctc.com

Telefon: 1-877-837-4339

00 8000 8374339

CELLSEARCH®, CELLTRACKS®, CELLTRACKS ANALYZER II®, MAGNEST® og AUTOPREP® er registrerte varemerker tilhørende Janssen Diagnostics, LLC. Mitomycin® er et registrert varemerke tilhørende Bristol Myers Oncology. Procrit® er et registrert varemerke tilhørende Ortho BioTech. Armidex® er et registrert varemerke tilhørende AstraZeneca. Aredia® er et registrert varemerke tilhørende Novartis. Herceptin® er et registrert varemerke tilhørende Genentech. Proclin® er et varemerke tilhørende Supelco.

Denne teknologien, inkludert produkter og/eller tilhørende komponenter, og prosedyrer og instrumentsystemer som beskrives i dette dokumentet, er beskyttet av amerikanske patenter og tilsvarende internasjonale patenter og patentsøknader, deriblant én eller flere av følgende: Amerikanske patentnumre: 5,466,574; 5,459,073; 5,512,332; 5,597,531; 5,698,271; 5,849,517; 5,985,153; 5,993,665; 6,120,856; 6,136,182; 6,365,362; 6,551,843; 6,620,627; 6,623,982; 6,645,731; 6,660,159; 6,790,366; 6,861,259; 6,890,426; 7,011,794, 7,282,350 og 7,332,288.

# KEY TO SYMBOLS / LÉGENDE DES SYMBLES / LEGENDA DEI SIMBOLI / SYMBOLLEGENDE / GLOSARIO DE SÍMBOLOS / ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΣΥΜΒΟΛΩΝ / LEGENDA DOS SÍMBOLOS / FORKLARING AV SYMBOLER / SEMBOLLERIN AÇIKLAMALARI

The following symbols may have been used in this instruction for use or in the associated labeling. / Les symboles suivants peuvent avoir été utilisés dans le présent feuillet technique ou sur les étiquettes jointes. / Di seguito sono indicati i simboli che appaiono nelle istruzioni per l'uso o nelle etichette associate. / Die folgenden Symbole wurden gegebenenfalls in dieser Gebrauchsanweisung oder zur damit verbundenen Kennzeichnung verwendet. / Los siguientes símbolos pueden haber sido empleados en estas instrucciones o en el etiquetado asociado. / Τα παρακάτω σύμβολα πιθανόν να έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί στις παρούσες οδηγίες χρήστη ή σε συναφή επισήμανση. / Os símbolos seguintes podem ter sido utilizados nestas instruções de utilização ou na rotulagem associada. / De følgende symbolene kan ha blitt brukt i denne bruksanvisningen eller i tilhørende merking. / Aşağıdaki semboller bu kullanım talimatında veya ilgili etiketlerde kullanılmış olabilir.



Use by  
YYYY-MM-DD or YYYY-MM  
À utiliser avant la date de péremption :  
AAAA-MM-JJ ou AAAA-MM  
Utilizzare entro la data di scadenza  
AAAA-MM-GG o AAAA-MM  
Verwendbar bis  
JJJJ-MM-TT oder JJJJ-MM  
Usar antes de  
AAAA-MM-DD o AAAA-MM  
Ημερομηνία λήξης  
EEEE-MM-HH ή EEEE-MM  
Utilizar até  
AAAA-MM-DD ou AAAA-MM  
Brukes før  
ÅÅÅÅ-MM-DD eller ÅÅÅÅ-MM  
Son kullanma tarihi  
YYYY-AA-GG veya YYYY-AA



Batch code  
Numéro du lot  
Codice lotto  
Loscode  
Código de lote  
Κωδικός παρτίδας  
Código do lote  
Batch-kode  
Parti kodu



Serial number  
Numéro de série  
Numero di serie  
Seriennummer  
Número de serie  
Αύξων αριθμός  
Número de série  
Seriennummer  
Seri numarası



Caution, consult accompanying documents  
Attention, consulter les documents joints  
Attenzione, consultare documenti allegati  
Achtung! Beigefügte Dokumente beachten  
Precaución, consulte los documentos adjuntos  
Προσοχή, συμβουλευθείτε τα συνοδευτικά έγγραφα  
Cuidado, consultar os documentos em anexo  
Forsiktig, se vedlagte dokumenter  
Dikkat, birlikte verilen belgelere bakın



Date of Manufacture  
Date de fabrication  
Data di produzione  
Herstellungsdatum  
Fecha de fabricación  
Ημερομηνία κατασκευής  
Data de fabrico  
Produktionsdato  
Üretim Tarihi



Manufacturer  
Fabricant  
Produttore  
Hersteller  
Fabricante  
Κατασκευαστής  
Fabricante  
Produsent  
Üretici



Contains sufficient for < n > tests  
Suffisant pour < n > tests  
Quantità sufficiente per < n > test  
Inhalt ausreichend für < n > Tests  
Contiene suficiente para < n > pruebas  
Περιεχόμενο επαρκές για < n > εξετάσεις  
Inneholder nok til < n > tester  
Contém o suficiente para < n > Testes  
<n> test için yeterli miktari içerir



Harmful  
Nocif  
Nocivo  
Gesundheitsschädlich  
Nocivo  
Επιβλαβές  
Nocivo  
Skadelig  
Zararlı



Catalog number  
Référence catalogue  
Numero di catalogo  
Artikelnummer  
Número de catálogo  
Αρ. καταλόγου  
Número de série  
Katalognummer  
Katalog numarası



**EC REP**

Authorized representative in the European Community  
Mandataire dans l'Union européenne  
Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea  
Autorisierte Vertretung in der EU  
Representante autorizado en la Comunidad Europea  
Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Συμβουλευθείτε τις  
Representante autorizado indicado nas instruções de Consulta para utilização na Comunidade Europeia  
Autorisert representant i konsultasjonsinstruksjonene for bruk i EU  
Avrupa Topluluğu'nda Yetkili Temsilci Kullanım talimatlarına başvurun



Temperature limitation  
Limitation de température  
Limiti di temperatura  
Temperaturbereich  
Limite de temperatura  
Περιορισμοί θερμοκρασίας  
Limite da temperatura  
Temperaturbegrensning  
Sıcaklık sınırı



Biological risks  
Risques biologiques  
Rischi biologici  
Biologische Gefahren  
Riesgos biológicos  
Βιολογικοί κίνδυνοι  
Riscos biológicos  
Biologiske farer  
Biyolojik riskler



Consult instructions for use  
Consulter le mode d'emploi (feuillet technique)  
Consultare le istruzioni per l'uso  
Gebrauchsanweisung lesen  
Consulte las instrucciones de uso  
Βλέπε οδηγίες χρήσης  
Consultar as instruções de utilização  
Se bruksanvisningen  
Kullanım Talimatları Bakın

**IVD**

*In vitro* diagnostic medical device  
Pour diagnostic *in vitro*  
Prodotto medico per la diagnostica *in vitro*  
*In-vitro*-Diagnostikum  
Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*  
*In vitro* διαγνωστική ιατροτεχνολογική συσκευή  
Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*  
*In vitro* diagnostisk mediset  
*In vitro* tanı amaçlı tıbbi cihaz



Janssen Diagnostics BVBA  
Turnhoutseweg 30  
2340 Beerse  
Belgium



**Janssen Diagnostics, LLC**  
700 US Highway Rte 202 South  
Raritan, NJ 08869-0606 USA  
[documents.cellsearchctc.com](http://documents.cellsearchctc.com)  
Telefon: 1-877-837-4339  
00 8000 8374339 (EU)

