

REF 7900001
Kit met 16 tests



**Circulating Tumor Cell Kit
(epitheliaal)**

IVD



BEOOGD GEBRUIK

Bestemd voor *in-vitro*diagnostiek.

De CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit is bedoeld voor de telling van circulerende tumorcellen (CTC) van epitheliale oorsprong (CD45-, EpCAM+ en cytokeratinen 8, 18+ en/of 19+) in volbloed.

De aanwezigheid van CTC in het perifere bloed, zoals gedetecteerd door de CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit, wordt in verband gebracht met een kortere progressievrije overleving en een kortere algehele overleving van patiënten die zijn behandeld voor gemetastaseerde borst-, colorectale of prostaatkanker*. De test moet worden gebruikt als hulpmiddel bij het monitoren van patiënten met gemetastaseerde borst-, colorectale of prostaatkanker. Het serieel testen op CTC moet worden gebruikt in combinatie met andere klinische methoden voor het monitoren van borst-, colorectale en prostaatkanker. Dankzij beoordeling van CTC op willekeurige tijdstippen tijdens het ziektebeloop kan de prognose van de patiënt worden beoordeeld en kunnen de progressievrije en algehele overleving worden voorspeld.

**In dit onderzoek werden patiënten met gemetastaseerde prostaatkanker gedefinieerd als patiënten met twee opeenvolgende stijgingen in de serummarker PSA boven een referentiewaarde ondanks hormonale standaardbehandeling. De vorm van kanker bij deze patiënten wordt gewoonlijk aangeduid als androgeenonafhankelijke, hormoonresistente of castratieresistente prostaatkanker.*

SAMENVATTING EN UITLEG

Metastase van kanker doet zich voor wanneer cellen van een primaire of gemetastaseerde tumor in de bloedsomloop terechtkomen en op andere plaatsen in het lichaam beginnen te groeien. Carcinomen ontstaan uit epitheelcellen die normaliter niet in de bloedsomloop worden aangetroffen.¹ Het CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem is ontworpen om het protocol van de monsterbereiding te standaardiseren en te automatiseren voor het gebruik met de CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit (CELLSEARCH® CTC Kit). De analyse en de telling van CTC's worden uitgevoerd met behulp van de CELLTRACKS ANALYZER II®, een halfautomatische fluorescentiemicroscop. De assay telt uitsluitend de cellen die het epitheelceladhesiemolecuul (EpCAM) en de cytokeratinen (CK) 8, 18 en/of 19 tot expressie brengen.

PRINCIPES VAN DE PROCEDURE

De CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit bevat een op ferrovlloeistof gebaseerd invangend reagens en immunofluorescente reagentia. Het ferrovlloeistofreagens bestaat uit deeltjes met een magnetische kern, omgeven door een met antilichamen gecoate polymeerlaag gericht tegen het EpCAM-antigen om CTC in te vangen. Na het immunomagnetisch invangen en verrijken worden er fluorescerende reagentia toegevoegd voor identificatie en telling van CTC. De fluorescente reagentia bestaan uit: anti-CK-tyco-erythrine (PE) specifiek voor het intracellulaire eiwit cytokeratine (kenmerkend voor epitheelcellen), DAPI voor kleuring van de celkern en anti-CD45-allofycocyanine (APC) specifiek voor leukocyten.

Het reagens/monstermengsel wordt door het CELLTRACKS® AUTOPREP® System overgebracht in een cassette die in een MAGNEST Cartridge Holder wordt geplaatst. Het sterke magnetische veld van de MAGNEST Cartridge Holder trekt de magnetisch gelabelde epitheelcellen naar het oppervlak van de cassette. De CELLTRACKS ANALYZER II® scant automatisch het gehele oppervlak van de cassette, maakt beelden en toont de gebruiker de plaatsen waar CK-PE en DAPI-fluorescentie samen voorkomen. De beelden worden voor de definitieve beoordeling aan de gebruiker getoond in galerijformaat. Een 'event' wordt als een tumorcel geassocieerd wanneer de morfologische kenmerken ervan overeenkomen met die van een tumorcel en wanneer het de fenotypen EpCAM+, CK+, DAPI+ en CD45- vertoont.

MEEGELEVERDE MATERIALEN

• Gebruiksaanwijzing

- **3,0 mL Anti-EpCAM ferrovlloeistof:** Bevat een suspensie van 0,022% magnetische deeltjes geconjugeerd met een monoklonaal muizenantilichaam dat specifiek is voor de op epitheelcellen voorkomende celoppervlaktemarker EpCAM in een buffer met 0,03% runderserumalbumine (BSA) en 0,05% ProClin® 300 als conserveermiddel. (bruine dop)
- **3,0 mL kleuringsreagens:** Bevat 0,0006% monoklonale muizenantilichamen specifiek tegen cytokeratinen geconjugeerd met tyco-erythrine (PE), 0,0012% anti-CD45 monoklonaal muizenantilichaam geconjugeerd met allofycocyanine (APC) in een buffer met 0,5% BSA en 0,1% natriumazide. (witte dop)
- **3,0 mL nucleïnezuurkleurstof:** Bevat 0,005% 4', 6'-diamidino-2-fenylindol-dihydrochloride (DAPI) en 0,05% ProClin® 300. (blauwe dop)
- **3,0 mL capture-verbeteringsreagens:** Bevat 0,02% gepatenteerd reagens voor een gecontroleerde aggregatie van ferrovlloeistof, 0,5% BSA en 0,1% natriumazide in buffer. (doorzichtige dop)
- **3,0 mL permeabilisatiereagens:** Bevat 0,011% gepatenteerd permeabilisatiereagens en 0,1% natriumazide in buffer. (groene dop)
- **3,0 mL celfixatief:** Bevat 25% gepatenteerde fixatiebestanddelen, 0,1% BSA en 0,1% natriumazide in buffer. (rode dop)
- **2 x 110 mL fles verdunningsbuffer:** Bevat buffer met 0,1% natriumazide.

- **16 CELLSEARCH® Conical Centrifuge Tubes (15 mL) en doppen voor conische buisjes**
- **16 cassettes en cassetteafsluiters**

BENODIGDE, NIET MEEGELEVERDE MATERIELEN

- CellSave Preservative Tubes (catalogusnummer 7900005)
- CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem (catalogusnummer 9541)
- CELLTRACKS ANALYZER II® (catalogusnummer 9555)
- CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit (catalogusnummer 7900003)
- CELLTRACKS® AUTOPREP®-instrumentbuffer (catalogusnummer 7901003)
- Centrifuge met horizontale uitzwaairotor met een vermogen van 800 x g
- Reageerbuisrekjes
- Gekalibreerde micropipetten en tips
- Vortexmixer

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Bestemd voor *in-vitro*diagnostiek.
2. Lees de gehele inhoud van deze gebruiksaanwijzing voordat er monsters worden onderzocht.
3. Let op: Vang het bloed uitsluitend op in een CellSave-buisje met conserveermiddel. CTC's zijn kwetsbaar en vereisen conservering voor een nauwkeurige analyse.
4. Let op: Het personeel moet de algemene voorzorgsmaatregelen naleven en laboratoriumveiligheidsmaterialen gebruiken (d.w.z. veiligheidsbril, laboratoriumjas, handschoenen).
5. Let op: microbiële besmetting van de reagentia kan foutieve resultaten veroorzaken en moet worden vermeden.
6. Let op: Sommige van de reagentia bevatten natriumazide als conserveermiddel. Roep bij inslikken direct medische hulp in. Buiten het bereik van kinderen houden. Niet in de buurt van voedsel en drank houden. Draag geschikte veiligheidskleding. Bij contact met zuren komt een zeer toxisch gas vrij. Azidemengsels moeten met grote hoeveelheden water worden doorgespoeld bij het afvoeren ervan om neerslag ervan in loden of koperen afvoerbuizen te vermijden, waar zich explosieve situaties kunnen ontwikkelen.
7. **Waarschuwing:** Alle biologische monsters, cassettes en andere materialen die in contact komen met het monster/de monsters dienen als biologisch gevaarlijk materiaal te worden beschouwd. Ga ermee om alsof het infecties kan overdragen. Behandel en verwijder afval met toepassing van de juiste voorzorgsmaatregelen en in overeenstemming met de plaatselijke, regionale en landelijke verordeningen. Pipetteer nooit met de mond.
8. **Waarschuwing:** Sommige van de reagentia bevatten ProClin® 300 als conserveermiddel.
9. Om de testprocedure uit te voeren moet de laborant een training volgen.

HIERONDER VOLGEN DE OPMERKINGEN MET BETREKKING TOT GEVAREN EN VOORZORGSMAATREGELEN:

H317 kan een allergische huidreactie veroorzaken.

Preventie:

P261 Voorkom het inademen van stof/rook/gas/nevel/damp/spray.

P272 Verontreinigde werkkleding mag niet buiten de werkplaats worden gedragen.

P280 Draag beschermende handschoenen.

Reactie:

P333 + P313 Bij het optreden van huidirritatie of uitslag: raadpleeg een arts.

P362 + P364 Trek verontreinigde kleding uit en was deze voor hergebruik.

Afvoeren:

P501 Voer de inhoud of houder af naar een goedgekeurd afvalverwerkingsbedrijf.

Raadpleeg het Safety Data Sheet (Veiligheidsinformatieblad) op www.cellsearchctc.com voor meer informatie.

OPSLAG EN HANTERING VAN REAGENTIA

- Reagentia worden gebruiksklaar geleverd. Ongeopend bewaren bij 2 tot 8 °C.
- Na opening mogen reagentia uit de reagenskit bij een temperatuur van 2 ° tot 8 °C maximaal 30 dagen worden bewaard. Geopende reagensverpakkingen **moeten** worden afgesloten met de bijpassende uniek gekleurde doppen, met de op de reagenstray afgebeelde kleurlabels als geleide. Hiermee wordt kruisbesmetting van reagentia voorkomen.
- **OPMERKING:** De fles verdunningsbuffer maakt geen deel uit van de reagenskit en mag bij kamertemperatuur maximaal 30 dagen worden bewaard.
- Bescherm de reagentia tegen temperaturen boven 35 °C. Niet invriezen.
- Voor gebruik op kamertemperatuur laten komen (15 tot 30 °C).

- Inspecteer de reagenskit visueel op de juiste plaatsing van de reagentia. Controleer of elk reagens zich op de juiste plaats bevindt door vergelijking van de uniek gekleurde dop met de kleuren die op het label worden aangegeven. Zie de foto voor de juiste plaatsing. Als reagentia verkeerd geplaatst zijn of als er twee dezelfde flessen zijn geplaatst, moet de reagenskit niet worden gebruikt. Neem voor vervanging contact op met de afdeling Technische Klantenservice.
- Bescherm de reagentia tegen zonlicht.
- Bij juiste opslag zijn de reagentia stabiel tot de houdbaarheidsdatum vermeld op de reagensverpakking of de kitdoos. Gebruik geen verlopen reagentia.
- De onderdelen van de kit zijn vervaardigd en getest als master lot. Meng en combineer **geen** reagentia van verschillende kits.



TESTPROCEDURE

Monsterafname en -bewerking

Afname van volbloed in CellSave-buisjes met conserveermiddel

1. Neem vóór instelling van een therapeutische behandeling initiële monsters af. Na instelling van een therapeutisch regime kunnen vervolgon monsters worden genomen, doorgaan elke 3 tot 4 weken, om de CTC-waarden tijdens de therapie te volgen. Als de patiënt met doxorubicine wordt behandeld, moet na toediening van een dosis doxorubicine ten minste 7 dagen worden gewacht voor er bloed kan worden afgenomen.
2. Neem volbloed uitsluitend in een CellSave-buisje met conserveermiddel aseptisch af door middel van venapunctie of uit een veneuze toegang.
3. Vul het buisje tot de bloedstroom stopt, zodat de juiste verhouding tussen monster, anticoagulans en conserveermiddel wordt verkregen. Meng het geheel direct door voorzichtig het buisje acht maal om te keren. Omkeren van het buisje voorkomt stolling. Onvoldoende of vertraagd mengen kan tot onnauwkeurige testresultaten leiden.
4. Bloedmonsters kunnen in CellSave-buisjes met conserveermiddel worden bewaard of getransporteerd. Zie de gebruiksaanwijzing van CellSave-buisjes met conserveermiddel voor instructies voor verwerken, bewaren en behandelen. Bewaar de monsters niet in de koelkast.

LET OP: Inspecteer elk monster visueel op stolling vóór verwerking op het CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem. Gestolde monsters moeten worden verwijderd.

Verwerking met het CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem

1. Meng het bloed in een CellSave-buisje met conserveermiddel door het met de hand vijf keer om te draaien. Verwijder daarna de rubber dop.
2. Gebruik een nieuwe pipet om 7,5 mL bloed over te brengen vanuit het CellSave-buisje met conserveermiddel naar een op dezelfde wijze gelabeld CELLSEARCH® Conical Centrifuge Tube van 15 mL uit de CELLSEARCH® CTC Kit.
3. Gebruik een nieuwe pipet om 6,5 mL verdunningsbuffer toe te voegen.
4. Plaats de dop op de CELLSEARCH® Conical Centrifuge Tube en meng het door het vijf keer om te draaien.
5. Centrifugeer het monster bij 800 × g, gedurende 10 minuten, met de rem uitgeschakeld, in een centrifuge met uitzwaairotor. De centrifugeduur van 10 minuten is exclusief de tijd die nodig is om tot 800 × g te komen. Schakel de rem van de centrifuge uit of, als uw centrifuge is voorzien van een instelbare remfunctie, stel de rem in op de laagste reminstelling. Centrifugeer bij kamertemperatuur met een centrifuge die geschikt is voor centrifugeren bij kamertemperatuur. Inspecteer na het centrifugeren van het monster elke monsterbuis visueel op scheiding van plasma en rode bloedcellen.
6. Verwerk het monster met het CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem **binnen 1 uur** na monsterbereiding zoals hierboven beschreven. Zie de gebruiksaanwijzing voor het CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem voor volledige instructies.

Analyse met behulp van de CELLTRACKS ANALYZER II®

Het CELLTRACKS® AUTOPREP® System voegt het verwerkte monster toe aan een cassette die gereed is voor analyse met behulp van de CELLTRACKS ANALYZER II®. De gevulde cassette in de MAGNEST Cartridge Holder dient minimaal 20 minuten in het donker te incuberen en binnen 24 uur te worden geanalyseerd. Zie de gebruiksaanwijzing van de CELLTRACKS ANALYZER II® voor instructies betreffende monsteranalyse en gegevensbeoordeling.

KWALITEITSCONTROLE

De CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit (catalogusnummer 7900003) controleert de algehele systeemwerking, inclusief instrumenten, reagentia en techniek van de laborant. Elke dag dat er patiëntenmateriaal wordt getest, moet een CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control worden uitgevoerd, evenals wanneer er een nieuwe partij CELLSEARCH® CTC Kit wordt gebruikt. Zie de gebruiksaanwijzing en verwachte waarden van de CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control Kit.

INTERPRETATIE VAN RESULTATEN

De resultaten worden weergegeven als het aantal CTC/7,5 mL bloed.

Gemetastaseerde borstkanker (Metastatic Breast Cancer, MBC)

Een CTC-telling van **5** of meer per 7,5 mL bloed op elk willekeurig tijdstip tijdens het ziektebeloop gaat gepaard met een slechte prognose en is voorspellend voor een kortere progressievrije overleving en algehele overleving.

Gemetastaseerde colorectale kanker (Metastatic Colorectal Cancer, MCR)

Een CTC-telling van **3** of meer per 7,5 mL bloed op elk willekeurig tijdstip tijdens het ziektebeloop gaat gepaard met een slechte prognose en is voorspellend voor een kortere progressievrije overleving en algehele overleving.

Gemetastaseerde prostaatkanker (Metastatic Prostate Cancer, MPC)

Een CTC-telling van **5** of meer per 7,5 mL bloed op elk willekeurig tijdstip tijdens het ziektebeloop gaat gepaard met een slechte prognose en is voorspellend voor een kortere progressievrije overleving en algehele overleving.

Voorzorgsmaatregel

Carry-over van een monster voor CTC-telling met **5000 of meer** CTC's per 7,5 mL bloed kan monsters beïnvloeden die na dat monster worden verwerkt op het CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem, inclusief de volgende batch. Als cellen worden overgedragen naar volgende monsters, kunnen de CTC-tellingen van die monsters foutief hoger zijn dan de werkelijke CTC-telling van de patiënt. **Zie de gebruiksaanwijzing voor het CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem voor volledige instructies.**

BEPERKINGEN

- Let op: Volgens de Amerikaanse (VS) federale wetgeving mag dit medisch hulpmiddel uitsluitend door of op voorschrift van een arts worden verkocht.
- De resultaten van CELLSEARCH® moeten worden gebruikt in combinatie met alle klinische informatie die afkomstig is van diagnostische onderzoeken (bijv. beeldvormend onderzoek, laboratoriumonderzoek), lichamelijk onderzoek en volledige medische voorgeschiedenis in overeenstemming met de juiste behandelprocedures voor de patiënten.
- Dit *prognostische* onderzoek toont niet aan dat *een* huidige therapielijन meer of minder doeltreffend is dan een andere of geen behandeling.
- De resultaten van CELLSEARCH® en die van beeldvormend onderzoek zijn niet gelijkwaardig wat betreft het beoordelen van de transitie van patiënten van niet-progressieve ziekte naar progressieve ziekte.
- Als de patiënt met doxorubicine wordt behandeld, moet na toediening van een dosis doxorubicine ten minste 7 dagen worden gewacht voor er bloed kan worden afgenomen. De resultaten van een CELLSEARCH®-test dienen met voorzichtigheid te worden geïnterpreteerd als er monsters binnen 7 dagen na toediening van doxorubicine worden afgenomen.
- CTC die geen EpCAM tot expressie brengen, worden niet door de CELLSEARCH®-test gedetecteerd.
- CTC die EpCAM maar niet de cytokeratinen 8, 18 en 19 tot expressie brengen, worden niet door de CELLSEARCH®-test gedetecteerd.
- Storende stoffen:
SK-BR-3-cellen gedoteerd in bloedmonsters werden blootgesteld aan potentieel storende stoffen en vergeleken met onbehandelde controles. De toxische waarden (5 maal de therapeutische index) van de volgende antikankermiddelen, zonder recept verkrijgbare geneesmiddelen en andere exogene stoffen zijn onderzocht: cyclofosfamide, Mitomycin C®, Procrit®, biotine, 5-fluoro-uracil, methotrexaat, tamoxifencitraat, paclitaxel, Arimidex®, acetaminofen, acetylsalicylzuur, cafeïne, dextromethorfan, Aredia®, Human Anti-Mouse Antibody (HAMA) type 1, HAMA type 2, Herceptin® en ibuprofen. Er werden geen significante verschillen in het aantal SK-BR-3-cellen waargenomen, wat aangeeft dat deze stoffen niet interfereren met de CELLSEARCH® CTC Kit.

Monsters gedoteerd met toxische waarden van doxorubicine, vertoonden een afwijkende kleuring van zowel leukocyten als van cytokeratine- en CD45-positieve cellen, omdat doxorubicine een fluorescerende verbinding is die in kernhoudende cellen wordt opgenomen. Als dit wordt waargenomen, is het kleuringspatroon van alle cellen die CD45-positief en cytokeratine-positief zijn, duidelijk en gemakkelijk door de laborant te identificeren als een bekend interferentiekleuringsprofiel. Als bloed na de aanbevolen 7-daagse wash-outperiode (na infusie van doxorubicine) wordt afgenomen, wordt deze interferentie waarschijnlijk niet in de klinische praktijk waargenomen gezien de gecontroleerde therapeutische spiegels en de snelle klaring van het middel.

Potentiele interferentie door lipemie is onderzocht door toevoeging van Intralipid aan monsters in een concentratie van 2,6%, wat overeenkomt met meer dan 1000 mg/dL triglyceride. De monsters werden gelyseerd om totale hemolyse na te bootsen. Bilirubine van 7,4 mg/dL, HAMA 1/HAMA 2 en hematocriet van 18-60% zijn onderzocht. Lipemie, hemolyse, icterus en een breed bereik aan hematocrietwaarden interfereren niet met de CELLSEARCH®-test. Ook HAMA 1 en HAMA 2 interfereren niet, wat aangeeft dat personen die parenteraal muizen-Ig toegediend krijgen, met succes met de CELLSEARCH®-test kunnen worden onderzocht.

VERWACHTE WAARDEN

Gezonde vrijwilligers, niet-maligne borstziekte, niet-maligne andere ziekte

Er zijn single-point CTC-analysen uitgevoerd bij controlegroepen van 145 gezonde vrijwilligers, 101 vrouwen met niet-maligne borstziekte en 99 vrouwen met een andere niet-maligne ziekte. Naar verwachting zijn er geen epitheelcellen in het perifere bloed van gezonde personen aanwezig. Van de in totaal 345 monsters van gezonde vrijwilligers en vrouwen met een niet-maligne ziekte had slechts één persoon meer dan 5 CTC/7,5 mL. De resultaten zijn samengevat in **tabel 1**.

Tabel 1. Controlepersonen

Categorie	N	Gemiddeld aantal CTC	SD	Aantal patiënten met ≥ 5 CTC	Min.*	Max.*
Gezond	145	0,1	0,2	0	0	1
Niet-maligne borstziekte	101	0,2	1,2	1	0	12
Andere niet-maligne ziekte	99	0,1	0,4	0	0	3

* NCCLS Richtlijn C28-A2³

Gezonde vrijwilligers, niet-maligne colorectale ziekte

Er is bloed afgenomen bij gezonde mannen en vrouwen van 35 jaar en ouder. Deze gezonde vrijwilligers werden in drie centra in de VS in het onderzoek opgenomen. Voor dit onderzoek werden bij elke persoon twee buisjes bloed afgenomen en beide werden beoordeeld op CTC-waarden. Er waren in totaal 150 beoordeelbare proefpersonen met één of twee afzonderlijke aliquots van 7,5 mL met voor CTC verwerkt bloed. Niet voor alle evalueerbare personen waren er CTC-resultaten van beide buizen beschikbaar. Het gemiddeld aantal circulerende tumorcellen was 0,0 voor beide groepen proefpersonen, met standaarddeviaties van 0,1 tot 0,2. Van de in totaal 284 monsters van gezonde vrijwilligers (mannen en vrouwen) had geen enkele proefpersoon meer dan 3 CTC/7,5 mL. De resultaten worden in **tabel 2** getoond.

Tabel 2. Resultaten van CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Assay bij controlepersonen

Gezonde controlepersonen	Alle controlepersonen			Alleen mannen			Alleen vrouwen		
	Buisje 1	Buisje 2	Totaal	Buisje 1	Buisje 2	Totaal	Buisje 1	Buisje 2	Totaal
N	149	135	284	68	64	132	81	71	152
CTC-bereik	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Gemiddelde CTC	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CTC SD	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
N (%) ≥ 1 CTC	2 (1%)	4 (3%)	6 (2%)	1 (1%)	1 (2%)	2 (2%)	1 (1%)	3 (4%)	4 (3%)
N (%) ≥ 2 CTC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

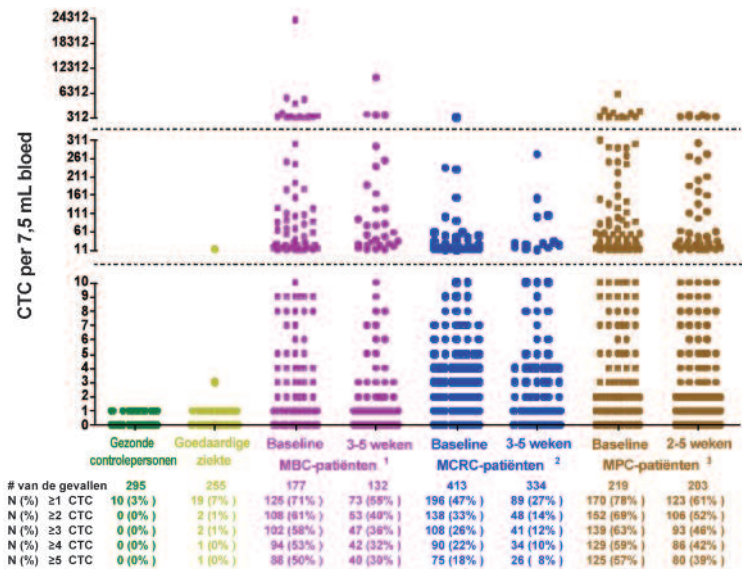
Er werd ongeveer dertig mL bloed (om de kans op het detecteren van cellen te vergroten) afgenomen in vier afzonderlijke CellSave-buisjes (minimaal 7,5 mL per buisje) van patiënten die een colonoscopie of een chirurgische ingreep voor een benigne ziekte ondergingen. Voorafgaand aan de procedure werden voor elke proefpersoon maximaal vier bloedmonsters van 7,5 mL onderzocht. De resultaten staan hieronder weergegeven in **tabel 3**. Niet voor alle evalueerbare personen waren er CTC-resultaten van alle vier de buizen beschikbaar. Geen van de patiënten met benigne colorectale ziekte had meer dan een enkele circulerende tumorcel per 7,5 mL bloed.

Tabel 3. Resultaten CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Assay bij personen met benigne colorectale ziekte.

Benigne ziekte	Bloedafname voorafgaand aan procedure				
	Buisje 1	Buisje 2	Buisje 3	Buisje 4	Totaal
N	55	55	53	47	210
Spreiding	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1	0 - 1
Gemiddeld	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0
SD	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2
% ≥ 1 CTC	3 (5%)	1 (2%)	2 (4%)	4 (9%)	10 (5%)
% ≥ 2 CTC	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

Afbeelding 1 toont de frequentie van CTC in de gecombineerde groep van gezonde proefpersonen en personen met een benigne ziekte (controle), en bij de MBC-, MCRC- en MPC-patiënten vóór instelling van de behandeling en ongeveer 1 maand na instelling van de behandeling.

Abbeelding 1. Frequentie van CTC bij controlepersonen (personen zonder kanker) en patiënten met gemetastaseerde borstkanker¹ (MBC), gemetastaseerde colorectale kanker² (MCRC) gemetastaseerde prostaatkanker³ (MPC) voor instelling van een nieuwe therapielij (baseline) en ~2-5 weken na instelling van de therapie.



¹ Informatie MBC-referentiepopulatie – Tabel 1 van de klinische gebruiksaanwijzing.

² Informatie MCRC-referentiepopulatie – Tabel 12 van de klinische gebruiksaanwijzing.

³ MPC informatie referentiepopulatie – Tabel 22 van de klinische gebruiksaanwijzing.

WERKINGSEIGENSCHAPPEN

Recovery

Bloedmonsters van één gezonde donor werden samengevoegd en vijf of zes aliquots van 7,5 mL werden gedoteerd met ongeveer 1300, 325, 81, 20 en 5 gekweekte borstkankercellen (SK-BR-3). Het zesde buisje was niet gedoteerd samengevoegd bloed en diende als nulpunt. Deze monsters werden verwerkt met het CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem met de CELLSEARCH® CTC (Circulating Tumor Cell) -kit en CTC-tellingen werden uitgevoerd op de CELLTRACKS ANALYZER II®. Het experiment werd herhaald met nog eens vier donoren. De gemeten celtellingen werden uitgezet tegen de resultaten van de verwachte celtellingen. De resultaten zijn samengevat in **tabel 4**.

Tabel 4. Geschatte detectiepercentages.

Verwacht aantal tumorcellen	Gemiddeld aantal waargenomen tumorcellen	Spreiding van percentage herwonnen cellen
1300	1215	91 tot 95%
325	308	82 tot 101%
81	85	80 tot 136%
20	22	95 tot 140%
5	7	120 tot 200%

Om de algemene mate van aanpassing (kleinste kwadraten te bepalen voor de vergelijking tussen waargenomen en verwachte celtellingen, werd een lineaire regressieanalyse uitgevoerd. De regressievergelijking voor deze 30 monsters was $Y = 0,93x + 3,87$ met een $R^2 = 0,999$ ($R = 0,999$). De resultaten van dit onderzoek duiden erop dat gemiddeld, binnen het onderzocht CTC-bereik, het percentage herwonnen cellen, zoals afgeleid uit de regressieanalyse, 93% bedraagt.

Gezien de lineaire respons van het tumorceltellingen zou men voor de grafiek 'waargenomen versus verwachte aantallen' een richtingscoëfficiënt van 1,0 verwachten. De feitelijke richtingscoëfficiënt was echter 0,93. Dit ligt aan het feit dat met het CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem met de CELLSEARCH®-CTC-kit cellen worden ingevangen en met een fluorescente stof worden gelabeld, en vervolgens door de CELLTRACKS ANALYZER II® worden gedetecteerd en geteld. Het verlies van cellen kan daarom worden toegeschreven aan één van de volgende mogelijkheden: 1) recovery van slechts 93% van de tumorcellen gedoteerd in 7,5 mL bloed door het CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem; 2) detectie van slechts 93% van de tumorcellen in de monstercamer door de CELLTRACKS ANALYZER II® of 3) een combinatie van deze beide foutenbronnen.

Lineariteit en rapporteerbaar bereik

Een andere manier om de eerdere data te onderzoeken is deze te analyseren als een verdunningsreeks, om lineariteit te testen. De verstorende variabele voor het percentage herwonnen cellen werd verwijderd door de waargenomen waarde van het initiële monster in de verdunningsreeks (d.w.z. het eerste buisje) gedeeld door de verdunningsfactoren te gebruiken om de verwachte waarden voor de verdunningsreeks voor elk patiëntenmonster te bepalen. Regressie van al deze aantallen waargenomen tumorcellen versus het aantal verwachte tumorcellen resulteerde in een richtingscoëfficiënt van 1,007, een intercept van 3,0 en een $R^2 = 0,990$ ($R = 0,995$). Nadat het percentage herwonnen cellen (celverlies) als factor uit de CTC-waarden van elk van de initiële monsters was geëlimineerd, bleek uit analyse van de gegevens dat de detectie van CTC lineair was binnen het rapporteerbare bereik van 0 tot 1238 tumorcellen.

Detectielimieten

Eén CTC per 7,5 mL kan door de CELLTRACKS ANALYZER II® worden gedetecteerd, resulterend in een detectielimiet van 1 CTC per cassette. Lineaire regressie toont aan dat gemiddeld 93% van de CTC in een bloedmonster van 7,5 mL met het CELLTRACKS® AUTOPREP®-systeem wordt teruggevonden (zie paragraaf **Recovery**). Het verlies van ongeveer 7% van de CTC in het monster is niet voldoende om de detectielimiet van 1 CTC te reduceren.

Reproduceerbaarheid:

a. Systeemreproduceerbaarheid met CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control

Gedurende 30 dagen werden er dagelijks drie afzonderlijke CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Control-monsters bewerkt en verwerkt volgens de long-run methode van de NCCLS-richtlijn EP5-A2. Elk afzonderlijk monsterbuisje voor eenmalig gebruik bevat een hoge en een lage concentratie cellen van een gefixeerde cellijn die vooraf gekleurd zijn met twee verschillende fluorochromen. De onderstaande tabel geeft de samengevatte statistiek weer voor de hoge en lage concentratie controlecellen.

Tabel 5. Samenvatting van precisieanalyses

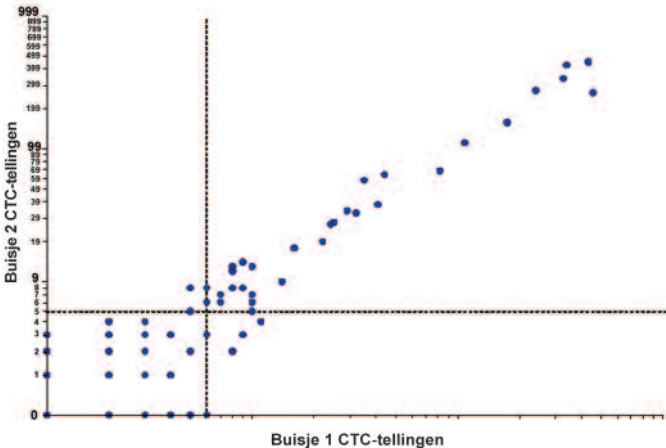
	Ondergrens	Hoog
N	99	99
Gemiddelde celtelling	48	969
Totale nauwkeurigheid standaarddeviatie (S _T) % CV	18%	5%

b. Systeemreproduceerbaarheid met patiëntenmonsters

gemetastaseerde borstkanker (Metastatic Breast Cancer, MBC)

In de loop van het klinische onderzoek zijn er in totaal 163 dublobloedmonsters afgenomen van 47 patiënten met gemetastaseerde borstkanker. Deze monsters zijn op meerdere locaties verwerkt om de reproduceerbaarheid van CTC-metingen vast te stellen. De regressievergelijking voor de vergelijking van deze 163 duplomonsters luidde $Y = 0,98x + 0,67$; $R^2 = 0,99$. **Afbeelding 2** toont een scatterdiagram van de CTC-resultaten in tweevoud in bloed van MBC-patiënten uitgezet op een logaritmische schaal, waarbij de drempel van 5 CTC wordt aangegeven door de streepjeslijnen.

Afbeelding 2. Reproduceerbaarheid van CTC-tellingen in MBC-duplomonsters (n=163) met een gemiddelde van < 5 of ≥ 5 CTC per 7,5 mL bloed.

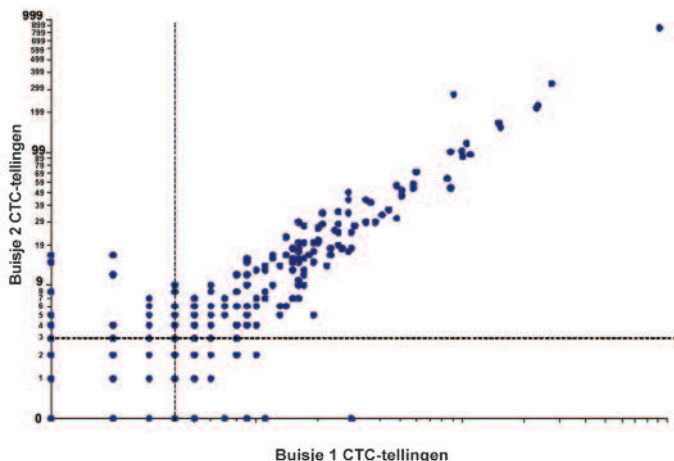


Afbeelding 2
Opmerking: er kunnen meer dan één gesuperponeerde punten zijn. Zo zijn er in deze grafiek 50 gevallen (31%) met 0 CTC in beide buisjes, 18 gevallen (11%) met 0 CTC in buisje 1, 1 CTC in buisje 2, en nog eens 18 gevallen (11%) met 1 CTC in buisje 1 en 0 CTC in buisje 2.

Gemetastaseerde colorectale kanker (Metastatic Colorectal Cancer, MCRC)

In totaal werden er in de loop van het klinische onderzoek bij 430 MCRC-patiënten 1627 bloedmonsters in tweevoud afgenomen. Deze monsters zijn op meerdere locaties verwerkt om de reproduceerbaarheid van de CTC-metingen vast te stellen. De regressievergelijking voor de vergelijking van deze 1627 duplomonsters was $Y = 0,98x + 0,18$; $R^2 = 0,96$. **Afbeelding 3** toont een scatterdiagram van de CTC-resultaten in tweevoud in bloed van MCRC-patiënten uitgezet op een logaritmische schaal, waarbij de drempel van 3 CTC wordt aangegeven door de streepjeslijnen.

Afbeelding 3. Reproduceerbaarheid van CTC-tellingen in MBC-duplomonsters (n = 1627) met een gemiddelde van < 3 of ≥ 3 CTC per 7,5 mL bloed.



Afbeelding 3
Opmerking: er kunnen meer dan één gesuperponeerde punten zijn. Zo zijn er in deze grafiek 975 gevallen (60%) met 0 CTC in beide buisjes, 116 gevallen (7%) met 0 CTC in buisje 1 en 1 CTC in buisje 2 en nog eens 109 gevallen (7%) met 1 CTC in buisje 1 en 0 CTC in buisje 2.

De variatie tussen buisjes van CTC-tellingen in bloedmonsters van patiënten met gemetastaseerde borstkanker en colorectale kanker wordt in **afbeelding 2 en 3** getoond. De verdeling van zeldzame gebeurtenissen (zoals tumorcellen) binnen een bepaald volume is willekeurig en onafhankelijk van het type cel of ziekte. Dit wordt het beste gekenmerkt door de Poissonverdeling – een wiskundig model dat gebruikt wordt voor modellering van systemen waarin de kans dat zich een gebeurtenis ('event') voordoet zeer klein is, maar het aantal gelegenheden voor een dergelijke gebeurtenis groot is⁵. Voor buisjes met zeer weinig CTC afkomstig van de prostaat is het redelijk om variatie in resultaten te verwachten zoals weergegeven in **afbeelding 2 en 3**. Omdat de twee voorgaande onderzoeken bij MBC- en MCRC-patiënten vrijwel identieke resultaten opleverden, werd er geen vergelijking tussen buisjes onderling van CTC-tellingen in bloedmonsters van patiënten met gemetastaseerde prostaatkanker uitgevoerd tijdens het klinische onderzoek CELLSEARCH® CTC. De resultaten van een onafhankelijk onderzoek met gebruikmaking van CELLSEARCH®-technologie dat in het Memorial Sloan-Kettering Cancer Center werd uitgevoerd, toonden echter geen systematische variatie tussen plaatsen of buisjes onderling in de CTC-telling binnen een bereik van 0 tot 1192 CTC per buisje bij patiënten met gemetastaseerde prostaatkanker⁴.

BIBLIOGRAFIE

1. Cancer Biology, 3rd edition, Ray Ruddon 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
Kit met 16 tests



**Circulating Tumor Cell Kit
(epitheliaal)**

**RESULTATEN KLINISCHE
ONDERZOEKEN**

Inhoudsopgave

1	Patiënten met gemetastaseerde borstkanker (Metastatic Breast Cancer, MBC)	5
1.1	CTC-frequenties	5
1.2	Analyse van de progressievrije overleving (PFS) van MBC-patiënten	6
1.2.1	PFS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline	6
1.2.2	PFS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij follow-up	6
1.2.3	Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde PFS	7
1.3	Analyse van de algehele overleving (OS) van MBC-patiënten	8
1.3.1	OS-analyse met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline	8
1.3.2	OS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij follow-up	9
1.3.3	Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde OS	9
1.3.4	Univariate Cox-regressieanalyse bij MBC-patiënten	10
1.3.5	Multivariate Cox-regressieanalyse bij MBC-patiënten	11
1.4	Toepassing van CTC voor monitoring van de klinische status van gemetastaseerde borstkanker	12
1.4.1	Relatie tussen overleving, CTC en ziektebeoordeling aan de hand van beeldvormend onderzoek	12
1.4.2	CTC	12
1.4.3	Beeldvormend onderzoek	13
1.4.4	Relatie tussen overleving enerzijds en beeldvormend onderzoek en CTC anderzijds	13
1.4.5	Concordanties tussen CTC en radiologische monitoring	15
1.4.6	CTC als toevoeging aan beeldvormend onderzoek	17
1.5	Variabiliteit van CTC en radiologische beoordelingen	17
1.5.1	CTC	17
1.5.2	Beeldvormend onderzoek	17
2	Patiënten met gemetastaseerde colorectale kanker (Metastatic Colorectal Cancer, MCRC)	18
2.1	CTC-frequenties	19
2.2	Analyse van de progressievrije overleving (PFS) van MCRC-patiënten	20
2.2.1	PFS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline	20
2.2.2	PFS met behulp van CTC-resultaten bij follow-up	20
2.2.3	Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde PFS	21
2.3	Analyse van de algehele overleving (OS) van MCRC-patiënten	22
2.3.1	OS-analyse met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline	22
2.3.2	OS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij follow-up	23
2.3.3	Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde OS	23
2.3.4	Univariate Cox-regressieanalyse bij MCRC-patiënten	24
2.3.5	Multivariate Cox-regressieanalyse bij MCRC-patiënten	25
2.4	Toepassing van CTC voor monitoring van de klinisch status van gemetastaseerde colorectale kanker	25
2.4.1	Relatie tussen overleving, CTC en ziektebeoordeling aan de hand van beeldvormend onderzoek	25
2.4.2	CTC	26
2.4.3	Beeldvormend onderzoek	26
2.4.4	Relatie tussen overleving enerzijds en beeldvormend onderzoek en CTC anderzijds	26
2.4.5	Concordanties tussen CTC en radiologische monitoring bij MCRC-patiënten	28
2.4.6	CTC als toevoeging aan beeldvormend onderzoek	29
3	Patiënten met gemetastaseerde prostaatcancer (Metastatic Prostate Cancer, MPC)	30
3.1	CTC-frequenties	31
3.2	Analyse van de progressievrije overleving (PFS) van MPC-patiënten	32
3.2.1	PFS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline	32
3.2.2	PFS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij follow-up	33
3.2.3	Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde PFS	34

3.3 Analyse van de algehele overleving (OS) van MPC-patiënten	34
3.3.1 OS-analyse met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline	34
3.3.2 OS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij follow-up	35
3.3.3 Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde OS	36
3.3.4 Univariate Cox-regressieanalyse bij MPC-patiënten	37
3.3.5 Multivariate Cox-regressieanalyse bij MPC-patiënten	38
3.4 Toepassing van CTC voor monitoring van de klinisch status van patiënten met gemetastaseerde prostaatkanker	40
3.4.1 Relatie tussen overleving, CTC's en ziektebeoordeling aan de hand PSA	40
3.4.2 Concordanties tussen CTC en PSA-veranderingen bij MPC-patiënten	41
3.4.3 CTC-waarden en PSA-daling gecombineerd om bij MPC-patiënten de OS te voorspellen	43
Tabellenlijst	
Tabel 1: Demografische gegevens MBC-patiënten	5
Tabel 2: Progressievrije overleving (PFS) voor MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen	7
Tabel 3: Algehele overleving (OS) voor MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen	9
Tabel 4: Univariate Cox-regressieanalyse bij MBC-patiënten	11
Tabel 5: Multivariate Cox-regressieanalyse van progressievrije overleving van MBC-patiënten	11
Tabel 6: Multivariate Cox-regressieanalyse van de algehele overleving bij MBC-patiënten	12
Tabel 7: OS van MBC-patiënten met CTC-beoordeling ongeveer één maand na instelling van de behandeling en binnen één maand na de radiologische beoordeling	14
Tabel 8: Vergelijking per patiënt van CTC en beeldvormend onderzoek voor MBC	16
Tabel 9: Vergelijking per observatie van CTC en beeldvormend onderzoek voor MBC	16
Tabel 10: Vergelijking per patiënt van CTC en beeldvormend onderzoek voor MBC	16
Tabel 11: Variabiliteit van radiologische en CTC-beoordelingen bij MBC-patiënten	18
Tabel 12: Demografische gegevens MCRC-patiënten	19
Tabel 13: Uitsluitingen van analyses van progressievrije en algehele overleving bij MCRC-patiënten	19
Tabel 14: Progressievrije overleving (PFS) voor MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC op verschillende tijdstippen	21
Tabel 15: Algehele overleving (OS) voor MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC op verschillende tijdstippen	23
Tabel 16: Univariate Cox-regressieanalyse bij MCRC-patiënten	24
Tabel 17: Multivariate Cox-regressieanalyse bij MCRC-patiënten	25
Tabel 18: OS van MCRC-patiënten met CTC-beoordeling ongeveer één maand na instelling van de behandeling en binnen één maand na de radiologische beoordeling	27
Tabel 19: Vergelijking per patiënt van CTC en beeldvormend onderzoek voor MCRC	28
Tabel 20: Vergelijking per observatie van CTC en beeldvormend onderzoek voor MCRC	29
Tabel 21: Vergelijking per patiënt van CTC en beeldvormend onderzoek voor MCRC	29
Tabel 22: Demografische gegevens MPC-patiënten	31
Tabel 23: Uitsluiting van analyses van PFS en OS bij MPC-patiënten	32
Tabel 24: Progressievrije overleving (PFS) voor MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen	33
Tabel 25: Algehele overleving (OS) voor MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen	36
Tabel 26: Univariate Cox-regressieanalyse bij MPC-patiënten	38
Tabel 27: Multivariate Cox-regressieanalyse bij MPC-patiënten	39
Tabel 28: Vergelijking van de mediane OS tussen groepen met een gunstige en ongunstige CTC en PSA-daling	41
Tabel 29: Vergelijking per patiënt van CTC en PSA-afname van 30% bij 2-5 weken voor MPC	42
Tabel 30: Vergelijking per patiënt van CTC en PSA-afname van 30% bij 13-20 weken voor MPC	42
Tabel 31: Vergelijking per observatie van CTC en PSA-afname van 30% voor MPC	42

Afbeeldingenlijst

Afbeelding 1: PFS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC bij baseline (N = 177)	6
Afbeelding 2: PFS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen tijdens follow-up	7
Afbeelding 3: Een afname in CTC tot lager dan 5 na instelling van de therapie voorspelt een langere PFS bij MBC-patiënten	8
Afbeelding 4: OS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC bij baseline (N = 177)	8
Afbeelding 5: OS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen tijdens follow-up	9
Afbeelding 6: Een afname in CTC tot lager dan 5 na instelling van de behandeling voorspelt een langere OS terwijl een toename in de CTC-telling tot 5 of hoger een kortere OS voorspelt bij MBC-patiënten	10
Afbeelding 7: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MBC-patiënten met NPD of PD bij het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek (N = 138)	14
Afbeelding 8: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC bij de eerste follow-up na instelling van de behandeling (N = 138)	15
Afbeelding 9: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC binnen ± 1 maand na het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek (N = 134)	15
Afbeelding 10: OS van MBC-patiënten in groep 1, 2, 3 en 4 met gebruikmaking van de CTC-beoordeling bij eerste follow-up na instelling van de behandeling (n = 138) en de ziektestatus zoals vastgesteld bij het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek	17
Afbeelding 11: PFS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC bij baseline (N = 413)	20
Afbeelding 12: PFS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC op verschillende tijdstippen tijdens follow-up	21
Afbeelding 13: Een afname in CTC tot lager dan 3 na instelling van de therapie voorspelt een langere PFS bij MCRC-patiënten	22
Afbeelding 14: OS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC bij baseline (N = 413)	22
Afbeelding 15: OS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC op verschillende tijdstippen tijdens follow-up	23
Afbeelding 16: Een afname in CTC tot lager dan 3 na instelling van de behandeling voorspelt een langere OS terwijl een toename in de CTC-telling tot 3 of hoger een kortere OS voorspelt bij MCRC-patiënten	24
Afbeelding 17: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MCRC-patiënten met NPD of PD bij het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek (N = 402)	27
Afbeelding 18: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC bij de eerste follow-up na instelling van de behandeling (N = 320)	27
Afbeelding 19: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC binnen ± 1 maand na het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek of tot overlijden (N = 364)	28
Afbeelding 20: OS van MCRC-patiënten in groep 1, 2, 3 en 4 met gebruikmaking van de CTC bij 3-5 weken na aanvang van de behandeling (n = 320) en de ziektestatus zoals vastgesteld bij het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek	30
Afbeelding 21: PFS van MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC bij baseline (N = 219)	32
Afbeelding 22: PFS van MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen tijdens follow-up	33
Afbeelding 23: Een afname in CTC tot lager dan 5 na instelling van de therapie voorspelt een langere PFS bij MPC-patiënten	34
Afbeelding 24: OS van MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC bij baseline (N = 219)	35
Afbeelding 25: OS van MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen tijdens follow-up	35
Afbeelding 26: Een afname in CTC tot lager dan 5 na instelling van de behandeling voorspelt een langere OS terwijl een toename in de CTC-telling tot 5 of hoger een kortere OS voorspelt bij MPC-patiënten	36
Afbeelding 27: OS van MPC-patiënten 2-5 weken na instelling van de therapie	40
Afbeelding 28: OS van MPC-patiënten 6-8 weken na instelling van de therapie	40
Afbeelding 29: OS van MPC-patiënten 9-12 weken na instelling van de therapie	40
Afbeelding 30: OS van MPC-patiënten 13-20 weken na instelling van de therapie	41
Afbeelding 31: CTC-waarden en PSA-veranderingen gecombineerd om de OS 2-5 weken (paneel A), 6-8 weken (paneel B), 9-12 weken (paneel C) en 13-20 weken (paneel D) na instelling van de behandeling te voorspellen.	43-44

1 Patiënten met gemetastaseerde borstkanker (MBC)

Er is een multicentrisch, prospectief klinisch onderzoek uitgevoerd om vast te stellen of het aantal CTC ziekteprogressie en overleving voorspelde. In het onderzoek werden patiënten opgenomen met gemetastaseerde borstkanker met meetbare ziekte (N = 177) die met een nieuwe therapielijijn begonnen. De klinische gegevens werden geanalyseerd op een intent-to-treat-basis. De demografische informatie van de patiënten wordt in tabel 1 weergegeven.

Tabel 1: Demografische gegevens MBC-patiënten

Categorie		N = 177 patiënten
Leeftijd bij baseline	Gemiddelde ± standaard- deviatie Mediaan	58 ± 13 58
	Beschrijving van categorieën	Aantal proefpersonen (% van totaal)
Stadium	1	26 (15%)
	2	92 (52%)
	3	26 (15%)
	4	20 (11%)
	Onbekend	13 (7%)
Ras	Blank	153 (86%)
	Zwart	14 (8%)
	Latijns-Amerikaans	7 (4%)
	Onbekend	3 (2%)
ECOG-score bij baseline	0	82 (46%)
	1	72 (41%)
	2	18 (10%)
	Onbekend	5 (3%)
Locatie ziekte	Visceraal	152 (86%)
	Bot	153 (86%)
ER/PR	+	121 (68%)
	-	54 (31%)
	Onbekend	2 (1%)
HER2	0	91 (51%)
	1+	12 (7%)
	2+	18 (10%)
	3+	27 (15%)
	Onbekend	29 (17%)
Therapielijijn	Eerstelijns	82 (46%)
	tweedelijns	26 (15%)
	≥ dertelijns	67 (38%)
	Onbekend	2 (1%)
Type therapie	Chemo (Ch)	74 (42%)
	Endocrien (En)	45 (25%)
	Gericht (Ta)	9 (5%)
	Ch/En	10 (6%)
	Ch/Ta	23 (13%)
	En/Ta	7 (4%)
	Ch/En/Ta	2 (1%)
	Anders	2 (1%)
	Onbekend	5 (3%)

Voorafgaand aan de instelling van een nieuwe therapielijijn werd bij baseline een CTC-telling uitgevoerd. Na instelling van de therapie werden ongeveer 3 tot 4 weken follow-up CT-tellingen uitgevoerd. Voor de baselineanalyses werd de progressievrije overleving (PFS) gemeten vanaf het tijdstip van de bloedafname bij baseline tot de diagnose van progressie aan de hand van CT-scans en/of klinische klachten en verschijnselen. De algehele overleving (OS) werd gemeten vanaf het tijdstip van de bloedafname bij baseline tot het moment van overlijden. Voor de follow-upanalyses werd de PFS gemeten vanaf het tijdstip van de bloedafname voor follow-up tot de diagnose van progressie of overlijden. De OS werd gemeten vanaf het tijdstip van de bloedafname voor follow-up tot het moment van overlijden.

1.1 CTC-frequenties

De CTC-resultaten die verkregen werden uit de bloedafnamen bij follow-up bij 3-5 weken, 6-8 weken, 9-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie, werden geclassificeerd als gunstig (< 5 CTC) of ongunstig (≥ 5 CTC). Als meer dan één CTC-resultaat werd verkregen binnen een van de aangegeven follow-up-tijdstippen, werd het CTC-resultaat van de bloedafname het verst van de bloedafname bij baseline gebruikt.

Van het totale aantal MBC-patiënten van 177 waren er 23 bij de eerste follow-up niet beoordeelbaar. Van deze 23 patiënten overleden tien patiënten voordat er een bloedafname voor follow-up kon worden uitgevoerd, vertoonden negen voorafgaand aan de bloedafname voor follow-up progressie en waren er vier niet meer voor follow-up beschikbaar. Opmerkelijk was dat elk van de tien overleden patiënten ≥ 5 tot extreem hoge CTC-tellingen bij baseline had (CTC-tellingen 9, 11, 15, 24, 111, 126, 301, 1143, 4648 en 23618). Van de 154 patiënten die voor follow-up beschikbaar waren, werd bij 132, 99, 129 en 85 patiënten bloed afgenomen bij respectievelijk 3-5, 6-8, 9-14 en 15-20 weken na instelling van de therapie.

Tabel 3 geeft een samenvatting van de totale aantallen en percentages patiënten met ongunstige CTC in het klinische onderzoek voor de algehele overleving die verschillen van het aantal en de percentages patiënten voor de progressievrije overleving zoals weergegeven in **tabel 2**. Het verschil in het aantal patiënten op elk tijdstip *tussen* de twee tabellen is toe te schrijven aan de progressie bij enkele patiënten voorafgaand aan de bloedafname. Het verschil in het aantal patiënten *tussen* de twee tabellen is toe te schrijven aan het aantal patiënten met bloedafnamen en evalueerbare CTC-resultaten op elk tijdstip.

1.2 Analyse van de progressievrije overleving (PFS) van MBC-patiënten

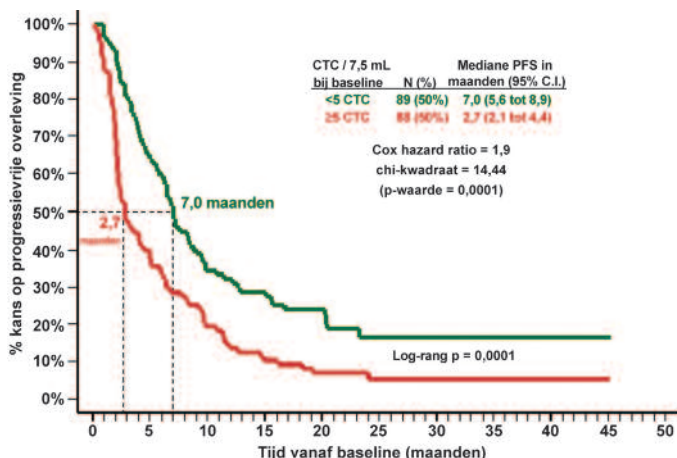
1.2.1 PFS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline

Bij alle 177 MBC-patiënten werd bij baseline een CTC-test uitgevoerd. Voor de Kaplan-Meieranalyse werden de patiënten opgedeeld in twee groepen op grond van hun CTC-telling bij de baseline:

- De gunstige groep (N = 89), weergegeven in **groen**, bestond uit patiënten met < 5 CTC.
- De ongunstige groep (N = 88), weergegeven in **rood**, bestond uit patiënten met ≥ 5 CTC.

De mediane PFS was in de gunstige groep significant langer dan in de ongunstige groep (respectievelijk 7,0 vs. 2,7 maanden). De resultaten zijn weergegeven in **afbeelding 1**.

Afbeelding 1: PFS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC bij baseline (N = 177).

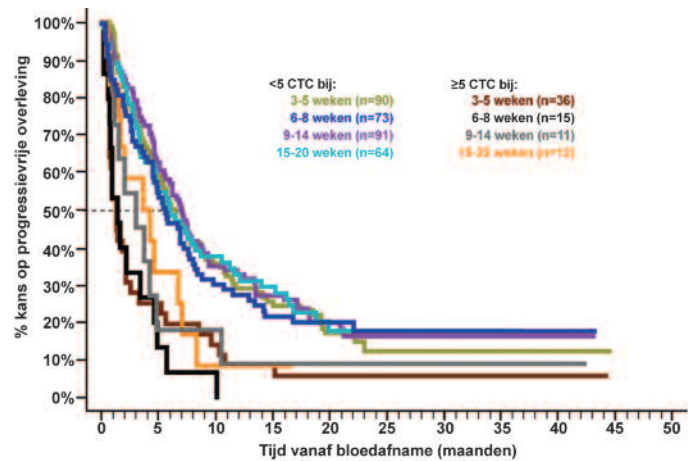


1.2.2 PFS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij follow-up

Voor de Kaplan-Meieranalyse werden de patiënten opgedeeld in twee groepen op grond van hun CTC-telling ten tijde van elk van de verschillende bloedafnamen bij follow-up. Beide patiëntgroepen op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafnamen bij follow-up na instelling van de therapie voor PFS, staan weergegeven in **afbeelding 2**. De PFS-perioden werden berekend vanaf het tijdstip van elke bloedafname, en elke patiënt die voorafgaand aan een specifieke bloedafname tekenen toonde van progressie, werd uitgesloten uit de analyse van deze en van alle daaropvolgende bloedafnamen bij follow-up. **Afbeelding 2** geeft het vermogen weer van CTC om bij patiënten met < 5 en ≥ 5 CTC 3-5 weken, 6-8 weken, 9-14 weken en 15-20 weken na instelling van de therapie om de periode te voorspellen tot klinische progressie bij 177 patiënten met gemetastaseerde borstkanker.

- De gunstige groep, weergegeven in **olijfgroen, blauw, paars** en **cyaan**, bestond uit patiënten met < 5 CTC,
- De ongunstige groep, weergegeven in **bruin, zwart, grijs** en **oranje**, bestond uit patiënten met ≥ 5 CTC.

Afbeelding 2: PFS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen van follow-up



Tabel 2 geeft een samenvatting van de resultaten van de PFS-analyse met gebruikmaking van de CTC-waarden en een drempel van ≥ 5 CTC/7,5 mL op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafname.

Tabel 2: Progressievrije overleving (PFS) voor MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen

1	2	3	4		6
Bemonsteringstijd na instelling van Tx	N	≥ 5 CTC	Mediane PFS in maanden (95% CI)		Log-rangorde p-waarde
			<5 CTC	≥ 5 CTC	
Baseline	117	88 (50%)	7,0 (5,6 tot 8,9)	2,7 (2,1 tot 4,4)	0,0001
3-5 weken	126	36 (29%)	6,1 (4,7 tot 8,6)	1,3 (0,7 tot 2,1)	<0,0001
6-8 weken	88	15 (17%)	5,6 (4,5 tot 7,6)	1,4 (0,6 tot 3,4)	0,0001
9-14 weken	102	11 (11%)	7,0 (5,1 tot 8,8)	3,0 (0,9 tot 4,8)	0,0251
15-20 weken	76	12 (16%)	5,9 (3,8 tot 8,7)	3,6 (0,7 tot 7,0)	0,0610

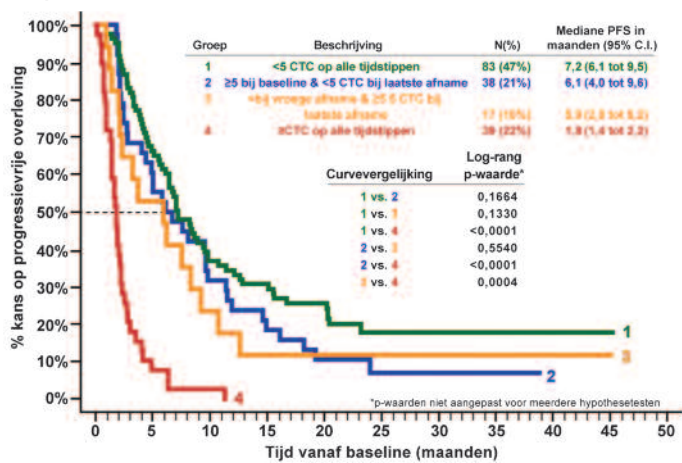
Zoals getoond in **afbeelding 2** en **tabel 2**, hadden patiënten met verhoogde CTC (≥ 5 CTC/7,5 mL volbloed) op elk willekeurig tijdstip een veel grotere kans op een snelle progressie dan die met < 5 CTC. **Tabel 2** kolom 4 toont de mediane PFS-perioden voor patiënten met < 5 CTC variërend van 5,6 tot 7,0 maanden, en die aanzienlijk langer waren dan de mediane PFS-perioden voor de patiënten met ≥ 5 CTC, die varieerden van 1,3 tot 3,6 maanden (kolom 5).

1.2.3 Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde PFS

Verstrekten PFS-perioden werden berekend vanaf de baseline bloedafname. Voor de Kaplan-Meieranalyse (**afbeelding 3**) werden de MBC-patiënten opgedeeld in vier groepen op grond van hun CTC-telling bij baseline, 3-5 weken, 6-8 weken, 9-14 weken en 15-20 weken na instelling van de therapie:

- Groep 1 (**groene** curve), 83 (47%) patiënten met < 5 CTC op alle tijdstippen van bloedafname. Bij vijf (6%) van deze patiënten was uitsluitend bij baseline bloed afgenomen terwijl er bij twee (2%) maar één keer bloed was afgenomen tussen de eerste en laatste bloedafname met ≥ 5 CTC;
- Groep 2 (**blauwe** curve), 38 (21%) patiënten met ≥ 5 CTC voorafgaand aan instelling van de therapie maar die waren gedaald tot < 5 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 3 (**oranje** curve), 17 (10%) patiënten met < 5 CTC bij een vroege afname (baseline, 3-5 weken en/of 6-8 weken) maar die waren gestegen tot ≥ 5 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 4 (**rode** curve), 39 (22%) patiënten met ≥ 5 CTC op alle tijdstippen van bloedafname. Bij tien (26%) van deze patiënten was alleen bij baseline bloed afgenomen.

Afbeelding 3: Een afname in CTC tot lager dan 5 na instelling van de therapie voorspelt een langere PFS bij MBC-patiënten



Afbeelding 3 laat zien dat MBC-patiënten met ≥ 5 CTC op alle tijdstippen (**groep 4**) de kortste mediane PFS hadden, die significant verschilde van de mediane PFS van **groep 3**, **groep 2** en **groep 1**. De verschillen tussen de curven voor de andere groepen in deze afbeelding waren niet significant.

1.3 Analyse van de algehele overleving (OS) bij MBC-patiënten

1.3.1 OS-analyse met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline

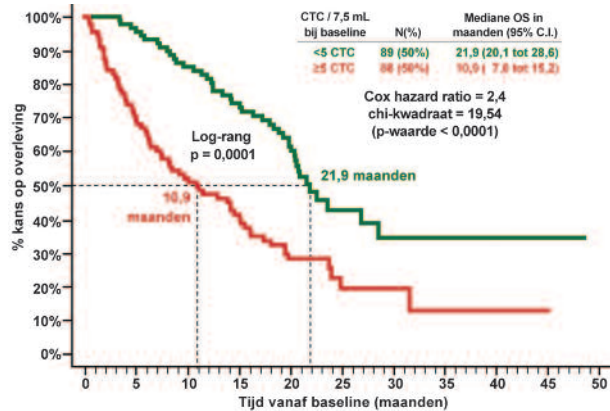
Honderdennegen (109) (62%) van de 177 MBC-patiënten overleden, met een gemiddelde follow-up tijd voor de 68 (38%) nog levende patiënten van $22,7 \pm 9,4$ maanden (mediaan = 21,1, spreiding = 4,4 – 48,6). Ten tijde van deze analyses waren 44 (49%) van de 89 patiënten uit de gunstige groep (< 5 CTC bij baseline) overleden in vergelijking met 65 (74%) van de 88 uit de ongunstige groep (≥ 5 CTC bij baseline).

Voor de Kaplan-Meieranalyse werden de patiënten opgedeeld in twee groepen op grond van hun CTC-telling bij baseline:

- De gunstige groep (N = 89), weergegeven in **groen**, bestond uit patiënten met < 5 CTC.
- De ongunstige groep (N = 88), weergegeven in **rood**, bestond uit patiënten met ≥ 5 CTC.

De mediane OS was in de gunstige groep significant langer dan in de ongunstige groep (respectievelijk 21,9 vs. 10,9 maanden). De resultaten zijn weergegeven in **afbeelding 4**.

Afbeelding 4: OS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC bij baseline (N = 177).

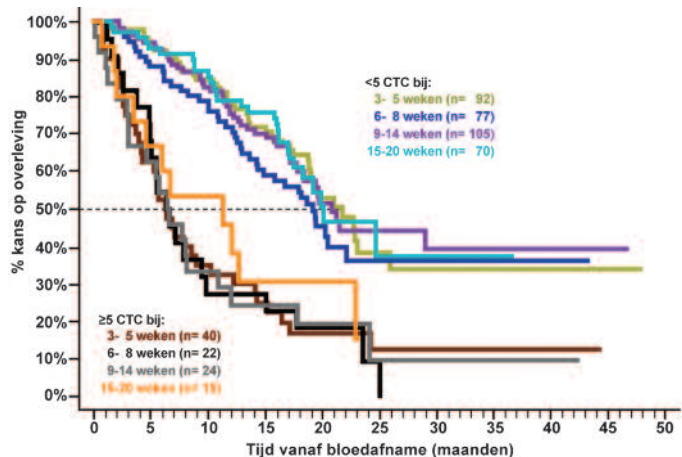


1.3.2 OS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij follow-up

De Kaplan-Meieranalyses van beide MBC-patiëntengroepen op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafname bij follow-up na instelling van de therapie staan weergegeven in **afbeelding 5**. Deze afbeelding toont het vermogen van CTC om bij MBC- patiënten met < 5 en ≥ 5 CTC bij 3-5 weken, 6-8 weken, 9-14 weken en 15-20 weken na instelling van de therapie de tijd tot overlijden te voorspellen bij 177 patiënten met gemetastaseerde borstkanker.

- De gunstige groep, weergegeven in **olijfgroen, blauw, paars en cyan**, bestond uit patiënten met < 5 CTC,
- De ongunstige groep, weergegeven in **bruin, zwart, grijs en oranje**, bestond uit patiënten met ≥ 5 CTC.

Afbeelding 5: OS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen tijdens follow-up



Tabel 3 geeft een samenvatting van de resultaten van de PFS-analyse met gebruikmaking van de CTC-waarden en een drempel van ≥ 5 CTC/7,5 mL op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafname.

Tabel 3: Algehele overleving (OS) voor MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen

1	2	3	4	5	6
Bemonsteringstijd na instelling van Tx	N	≥ 5 CTC	Mediane OS in maanden (95% CI)		Log-rangorde p-waarde
			<5 CTC	≥ 5 CTC	
Baseline	177	88 (50%)	21,9 (20,1 tot 28,6)	10,9 (7,0 tot 15,2)	<0,0001
3-5 weken	132	40 (30%)	21,7 (18,8 tot 25,9)	6,2 (4,1 tot 8,9)	<0,0001
6-8 weken	99	22 (22%)	19,1 (14,2 tot 22,1)	6,3 (4,8 tot 9,8)	0,0001
9-14 weken	129	24 (19%)	20,8 (17,8 tot ≥ 45)	6,4 (3,0 tot 10,9)	<0,0001
15-20 weken	85	15 (18%)	20,1 (17,1 tot ≥ 35)	11,3 (2,0 tot 22,9)	0,0021

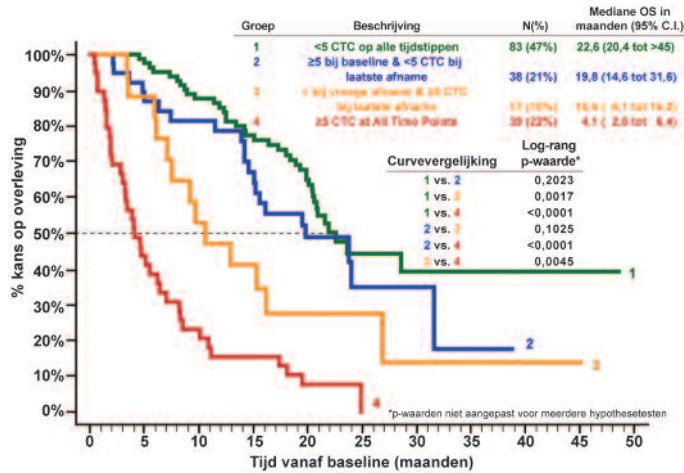
1.3.3 Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde OS

Verstrekte OS-perioden werden berekend vanaf de bloedafname bij baseline. Voor de Kaplan-Meieranalyse (**afbeelding 6**) werden de patiënten opgedeeld in vier groepen op grond van hun CTC-telling bij baseline, 3-5 weken, 6-8 weken, 9-14 weken en 15-20 weken na instelling van de therapie:

- Groep 1 (**groene** curve), 83 (47%) patiënten met < 5 CTC op alle tijdstippen van bloedafname. Bij vijf (6%) van deze patiënten was uitsluitend bij baseline bloed afgenomen terwijl er bij twee (2%) maar één keer bloed was afgenomen tussen de eerste en laatste bloedafname met ≥ 5 CTC;
- Groep 2 (**blauwe** curve), 38 (21%) patiënten met ≥ 5 CTC voorafgaand aan instelling van de therapie maar die waren gedaald tot < 5 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 3 (**oranje** curve), 17 (10%) patiënten met < 5 CTC bij een vroege afname (baseline, 3-5 weken en/of 6-8 weken) maar die waren gestegen tot ≥ 5 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 4 (**rode** curve), 39 (22%) patiënten met ≥ 5 CTC op alle tijdstippen van bloedafname. Bij tien (26%) van deze patiënten was alleen bij baseline bloed afgenomen.

Afbeelding 6 laat zien dat MBC-patiënten die de drempel van 5 CTC op elk willekeurig moment na instelling van de therapie overschrijden, een veel grotere kans hadden op een kortere algehele overleving. Patiënten met ≥ 5 CTC op alle tijdstippen (**groep 4**) hadden de kortste mediane OS, die significant verschilde van die van de mediane OS van **groep 3**, **groep 2** en **groep 1**. Het verschil in de mediane overleving tussen **groep 3** en **groep 1** was ook significant, en hoewel de mediane OS voor **groep 3** korter was dan voor **groep 2**, was het verschil niet statistisch significant. **Afbeelding 6** laat ook zien dat patiënten die ≥ 5 CTC bij baseline hebben maar uiteindelijk dalen tot < 5 CTC na instelling van de therapie, ongeveer hetzelfde overlijdensrisico hebben als de patiënten die nooit de drempel van 5 CTC overschrijden.

Afbeelding 6: Een afname in CTC tot lager dan 5 na instelling van de therapie voorspelt een langere OS terwijl een toename in de CTC-telling tot 5 of hoger een kortere OS bij MBC-patiënten voorspelt.



Zoals getoond in **afbeelding 6** en **tabel 3**, in kolom 4 en 5, hadden MBC-patiënten met ≥ 5 CTC op elk willekeurig tijdstip een veel grotere kans op eerder overlijden dan degenen met < 5 CTC. De mediane OS-perioden voor de patiënten met < 5 CTC varieerden van 19,1 tot 21,9 maanden en waren aanzienlijk langer dan de mediane OS-perioden voor de patiënten met ≥ 5 CTC, die varieerden van 6,2 tot 11,3 maanden.

1.3.4 Univariate Cox-regressieanalyse bij MBC-patiënten

De volgende parameters werden met gebruikmaking van univariate Cox-regressieanalyse geanalyseerd om het verband tussen PFS en OS te beoordelen: leeftijd patiënt (continu), ziektestadium bij diagnose (1-4), tijd tot metastasering (continu), ECOG-status vóór instelling van een nieuwe therapielijn (0-2), ER/PR-status (+/-), HER2/neu-status (0-3+), therapielijn (≥ 2 of 1e), soort therapie (uitsluitend chemo of hormonaal/combinatie), CTC-telling bij baseline (≥ 5 of < 5 CTC/7,5 mL) en follow-up CTC-tellingen 3-5 weken, 6-8 weken, 9-14 weken en 15-20 weken na instelling van de therapie (≥ 5 of < 5 CTC/7,5 mL). **Tabel 4** geeft de resultaten van deze analyse weer en toont de Cox hazard ratio (HR) en bijbehorende p-waarde (Waldtest of Z-statistiek) evenals het aantal patiënten bij elke beoordeling.

Tabel 4: Univariate Cox-regressieanalyse bij MBC-patiënten

Parameter	Categorieën		Aantal MBC - patiënten	PFS-risico vanaf baseline		OS-risico vanaf baseline	
	Positief	Negatief		HR	p-waarde	HR	p-waarde
Leeftijd bij bloedafname bij baseline	Leeftijd in jaren		175	0,99	0,173	0,99	0,375
Stadium bij primaire diagnose	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		164	0,97	0,723	1,00	0,969
ER/PR	Positief	Negatief	175	0,84	0,327	0,53	0,002
Her-2/neu	3+ vs. 2+ vs. 1+ vs. 0		148	0,91	0,207	0,93	0,422
ECOG-status bij baseline	2 vs. 1 vs. 0		172	1,14	0,307	1,64	0,001
Tijd tot metastasering	Tijd in jaren		175	0,97	0,048	0,95	0,018
Therapielijn	≥ 2e	1e	175	1,55	0,007	1,91	0,001
Type therapie	Uitsluitend chemo	H / C en/of I	172	1,97	<0,001	2,22	<0,001
CTC-aantal bij baseline	≥ 5	<5	177	1,85	<0,001	2,36	<0,001
CTC-aantal bij 3-5 weken	≥ 5	<5	132	2,52	<0,001	3,30	<0,001
CTC-aantal bij 6-8 weken	≥ 5	<5	99	3,57	<0,001	2,87	<0,001
CTC-aantal bij 9-14 weken	≥ 5	<5	129	2,89	<0,001	3,64	<0,001
CTC-aantal bij 15-20 weken	≥ 5	<5	85	1,86	0,041	2,85	0,004

H / C / en/of I – Uitsluitend hormonale of immuuntherapie of een combinatie van hormonale en/of chemo- en/of immuuntherapie

1.3.5 Multivariate Cox-regressieanalyse bij MBC-patiënten

Er zijn multivariate Cox-regressieanalyses uitgevoerd bij MBC-patiënten voor beoordeling van de onafhankelijke voorspellende power van de CTC-telling door correctie voor de effecten van de bekende belangrijke klinische factoren die statistisch gezien significant zijn met betrekking tot de univariate analyses. CTC bleek een sterke voorspellende factor te zijn voor de PFS (tabel 5) en OS (tabel 6).

Tabel 5: Multivariate Cox-regressieanalyse van de progressievrije overleving van MBC-patiënten

Variabel	N	Hazard ratio	p-waarde
CTC bij baseline (< 5 vs. ≥ 5)	172	1,69	0,001
Tijd tot metastasering (jaar)		0,98	0,154
Therapielijn (1e vs. ≥ 2e)		1,52	0,013
Type therapie (hormonaal/anders vs. uitsluitend chemo)		1,74	0,001
CTC bij 3-5 weken follow-up (< 5 vs. ≥ 5)	132	2,32	<0,001
Tijd tot metastasering (jaar)		0,97	0,166
Therapielijn (1e vs. ≥ 2e)		1,68	0,008
Type therapie (hormonaal/anders vs. uitsluitend chemo)		1,50	0,060
CTC bij 6-8 weken follow-up (< 5 vs. ≥ 5)	99	2,92	<0,001
Tijd tot metastasering (jaar)		0,93	0,023
Therapielijn (1e vs. ≥ 2e)		1,36	0,175
Type therapie (hormonaal/anders vs. uitsluitend chemo)		1,90	0,005
CTC bij 9-14 weken follow-up (< 5 vs. ≥ 5)	129	2,23	0,002
Tijd tot metastasering (jaar)		0,97	0,170
Therapielijn (1e vs. ≥ 2e)		1,48	0,061
Type therapie (hormonaal/anders vs. uitsluitend chemo)		1,73	0,007
CTC bij 15-20 weken follow-up (< 5 vs. ≥ 5)	85	1,58	0,140
Tijd tot metastasering (jaar)		0,96	0,064
Therapielijn (1e vs. ≥ 2e)		1,80	0,018
Type therapie (hormonaal/anders vs. uitsluitend chemo)		1,66	0,049

Tabel 6: Multivariate Cox-regressieanalyse van de algehele overleving bij MBC-patiënten

Variabel	N	Hazard ratio	p-waarde
CTC bij baseline (< 5 vs. ≥ 5)	170	2,62	<0,001
ER/PR (negatief vs. positief)		0,57	0,016
ECOG-status bij baseline (2 vs. 1 vs. 0)		1,58	0,001
Tijd tot metastasering (jr)		0,97	0,078
Therapielij (1e vs. 2e)		2,33	<0,001
Type therapie (hormonaal/anders vs. uitsluitend chemo)		1,78	0,006
CTC bij 3-5 weken follow-up (< 5 vs. ≥ 5)	130	3,78	<0,001
ER/PR (negatief vs. positief)		0,51	0,020
ECOG-status bij baseline (2 vs. 1 vs. 0)		1,69	0,001
Tijd tot metastasering (jaar)		0,96	0,142
Therapielij (1e vs. 2e)		2,30	0,001
Type therapie (hormonaal/anders vs. uitsluitend chemo)		1,72	0,026
CTC bij 6-8 weken follow-up (< 5 vs. ≥ 5)	99	2,88	0,001
ER/PR (negatief vs. positief)		0,58	0,062
ECOG-status bij baseline (2 vs. 1 vs. 0)		1,32	0,173
Tijd tot metastasering (jaar)		0,94	0,135
Therapielij (1e vs. 2e)		2,51	0,001
Type therapie (hormonaal/anders vs. uitsluitend chemo)		2,33	0,003
CTC bij 9-14 weken follow-up (< 5 vs. ≥ 5)	129	4,14	<0,001
ER/PR (negatief vs. positief)		0,39	0,002
ECOG-status bij baseline(2 vs. 1 vs. 0)		1,57	0,016
Tijd tot metastasering (jaar)		0,98	0,388
Therapielij (1e vs. 2e)		2,21	0,003
Type therapie (hormonaal/anders vs. uitsluitend chemo)		2,28	0,003
CTC bij 15-20 weken follow-up (< 5 vs. ≥ 5)	85	3,44	0,006
ER/PR (negatief vs. positief)		0,38	0,024
ECOG-status bij baseline (2 vs. 1 vs. 0)		1,33	0,321
Tijd tot metastasering (jaar)		0,94	0,150
Therapielij (1e vs. 2e)		3,43	0,001
Type therapie (hormonaal/anders vs. uitsluitend chemo)		1,67	0,166

1.4 Toepassing van CTC voor monitoring van de klinisch status van gemetastaseerde borstkanker

1.4.1 Relatie tussen overleving, CTC en ziektebeoordeling aan de hand van beeldvormend onderzoek

Radiologisch beeldvormend onderzoek is één van de primaire methoden om de ziektestatus en de respons op behandeling vast te stellen bij patiënten met gemetastaseerde borstkanker. Om de relatie van de klinische status vast te stellen zoals bepaald door beeldvormend onderzoek ten opzichte van CTC, werd de CTC op twee verschillende tijdstippen gemeten en werden de resultaten van beeldvormend onderzoek vergeleken 1) met het werkelijke klinische eindpunt van algehele overleving en 2) met elkaar.

1.4.2 CTC

Uit eerdere gegevens is gebleken dat MBC-patiënten met ≥ 5 CTC/7,5 mL bloed bij elk volgende follow-upbezoek na instelling van de therapie een grotere kans hadden op progressieve ziekte en kortere algehele overleving dan patiënten met < 5 CTC/7,5 mL bloed. De CTC-resultaten die bij de eerste follow-up na instelling van de therapie werden verkregen, evenals de CTC-resultaten die binnen $\pm$ één maand na het beeldvormende onderzoek werden verkregen, werden geclassificeerd als < 5 CTC en ≥ 5 CTC. Als binnen $\pm$ één maand na het beeldvormende onderzoek meer dan één CTC-waarde werd verkregen, werd het CTC-resultaat het dichtst bij de datum van het beeldvormende onderzoek gebruikt.

1.4.3 Beeldvormend onderzoek

Alle locaties voor beeldvormend onderzoek voldeden aan de normen volgens Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM). Met gebruikmaking van gestandaardiseerde digitale beelden hebben twee ervaren radiologen (readers), die onafhankelijk van elkaar werkten en geblindeerd waren voor klinische informatie, elke ziektebeoordeling bij follow-up (in totaal 231 beeldvormende onderzoeken) van 138 patiënten met meetbare ziekte geïdentificeerd als onbepaald (I), stabiele ziekte (S), partiële respons (PR) of progressieve ziekte (PD) volgens de bidimensionele criteria van de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO). Meetbare ziekte werd gedefinieerd als de aanwezigheid van minimaal één laesie ≥ 2 cm als langste afmeting. De readers hebben tot acht laesies per patiënt per tijdstip geïdentificeerd door beschrijving van de langste lengtemeting van de laesie en de langste dwarsafmeting. Deze twee afmetingen werden vermenigvuldigd waarna het "kruisproduct" werd vermeld. Er werden gesommeerde metingen voor de kruisproducten berekend en de percentuele verandering ten opzichte van het voorgaande tijdstip werd bepaald. Hoewel alle patiënten meetbare ziekte hadden, werden niet-meetbare laesies (wel radiologisch detecteerbaar) in de bepaling van de patiëntstatus opgenomen, zoals wordt beschreven in de WHO-richtlijnen. Progressieve ziekte werd gedefinieerd als een toename van $> 25\%$ in de som van alle laesies of het optreden van een nieuwe meetbare of niet-meetbare laesie. Partiële respons werd gedefinieerd als een afname in de som van alle laesies van $\geq 50\%$ en geen nieuwe laesies.

De radiologische interpretaties van de twee deskundige radiologen werden als volgt geïdentificeerd:

- S en PR werden beide beschouwd als een weergave van niet-progressieve ziekte (NPD)
- PD werd als een afspiegeling van progressieve ziekte beschouwd
- In situaties waarin één van de radiologen een classificatie 'onbepaald' (I) toekende maar de andere radioloog een classificatie 'S', 'PR' of 'PD', werd de classificatie van deze laatste radioloog gebruikt voor vergelijking met CTC (n = 11)
- Wanneer beide radiologen een classificatie van 'onbepaald' (I) toekenden, werden de gegevens niet gebruikt voor de vergelijking met CTC (n = 3)
- Een derde onafhankelijke radioloog oordeelde over meningsverschillen tussen de twee primaire readers met betrekking tot PD en NPD (n = 27)
- Wanneer de derde onafhankelijke radioloog een classificatie 'onbepaald' (I) toekende, werden de gegevens niet gebruikt voor vergelijking met CTC (n = 2)
- Bij seriële beeldvormende onderzoeken werden de radiologische resultaten die minder dan één maand na een voorgaande getabellarisering waren verkregen, niet gebruikt (n = 1).

1.4.4 Relatie tussen overleving enerzijds en beeldvormend onderzoek en CTC anderzijds

Er zijn afzonderlijke Kaplan-Meieranalyses uitgevoerd voor vergelijking van de algehele overleving van MBC-patiënten in de gunstige (< 5 CTC) en ongunstige (≥ 5 CTC) groep met gebruikmaking van de CTC-resultaten op twee verschillende tijdstippen en het eerste, bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek. Met gebruikmaking van de resultaten van de eerste verrichte beeldvormende onderzoeken bij follow-up uitgevoerd bij $10,1 \pm 5,1$ weken (mediaan = 9,0 weken) na instelling van de therapie (d.w.z. de bloedafname bij baseline), was de mediane overleving van de 96 (70%) patiënten bij wie volgens het beeldvormende onderzoek sprake was van NPD, 23,8 maanden (95% CI 20,4 tot 28,6) (**afbeelding 7, tabel 7**). Voor de 42 (30%) patiënten bij wie volgens beeldvormend onderzoek sprake was van PD, was de mediane overleving 12,9 maanden (95% CI 7,1 tot 19,3).

Voor CTC bij de eerste bloedafname bij follow-up, uitgevoerd na $4,3 \pm 2,5$ weken (mediaan = 4,0 weken) na instelling van de therapie, was de mediane overleving van 104 (75%) patiënten met gunstige CTC-resultaten (< 5 CTC) 21,9 maanden (95% CI 20,4 tot 26,9) (**afbeelding 8, tabel 7**). Vierendertig (34) patiënten (25%) met ongunstige CTC-resultaten (≥ 5 CTC) hadden een mediane overleving van 8,3 maanden (95% CI 5,9 tot 15,1).

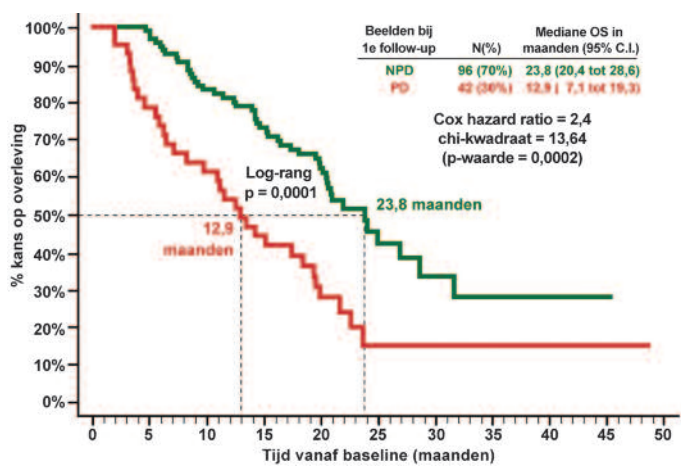
Om te bepalen of dichter bij het tijdstip van het beeldvormende onderzoek uitgevoerde CTC-beoordelingen resulteerden in vergelijkbare vooruitzichten met betrekking tot overleving als CTC-beoordelingen die ongeveer 4 weken na instelling van de therapie werden uitgevoerd, werden uitsluitend de patiënten geanalyseerd met CTC-beoordelingen uitgevoerd binnen $\pm$ één maand na het eerste, bij follow-up verrichte beeldvormende onderzoek ($9,9 \pm 5,1$ weken, mediaan = 8,8 weken, na instelling van de therapie) (**afbeelding 9, tabel 7**). Bij 134 van de 138 patiënten (97%) was binnen één maand na het eerste beeldvormende onderzoek bij follow-up een CTC-beoordeling uitgevoerd. De mediane overleving van 105 (78%) patiënten met gunstige CTC-resultaten was 21,9 maanden (95% CI 19,9 tot 31,6). Voor 29 (22%) van de patiënten met ongunstige CTC-resultaten was de mediane overleving 8,5 maanden (95% CI 5,5 tot 15,1). Deze gegevens laten zien dat met CTC-beoordelingen op beide tijdstippen resultaten opleverde die overeenkwamen met beeldvormend onderzoek uitgevoerd ongeveer 9 weken na instelling van de therapie (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, november 2006).

Tabel 7: OS van MBC-patiënten met CTC-beoordeling ongeveer één maand na instelling van de therapie en binnen één maand na de radiologische beoordeling

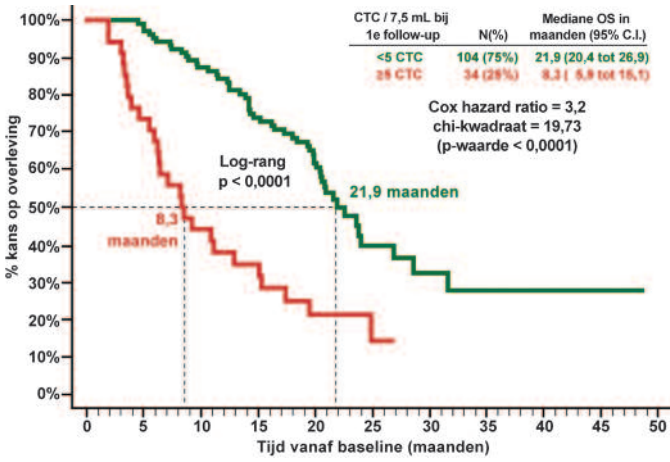
	N	Mediane overleving en (95% CI) maanden
Beeldvormend onderzoek	138	
Gunstig (NPD)	96 (70%)	23,8 (20,4 - 28,6)
ongunstig (PD)	42 (30%)	12,9 (7,1 - 19,3)
Eerste follow-up CTC	138	
gunstig (< 5)	104 (75%)	21,9 (20,4 - 26,9)
ongunstig (≥ 5)	34 (25%)	8,3 (5,9 - 15,1)
CTC (±1 maand na beeldvormend onderzoek)	134*	
gunstig (< 5)	105 (78%)	21,9 (19,9 - 31,6)
ongunstig (≥ 5)	29 (22%)	8,5 (5,5 - 15,1)

* Bij 134 /138 patiënten werden binnen (±) 1 maand na beeldvormend onderzoek CTC-beoordelingen uitgevoerd.

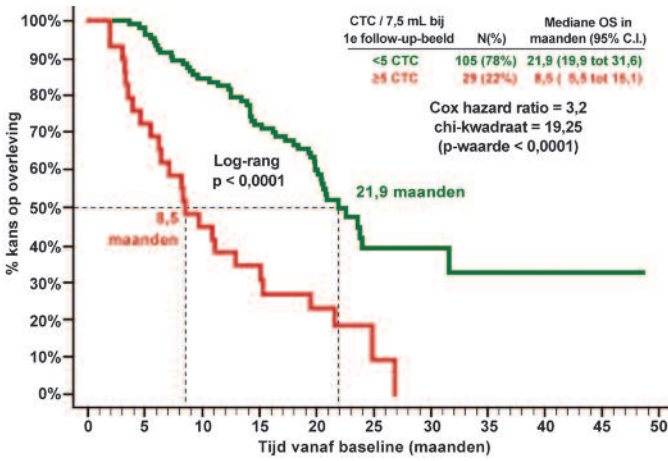
Afbeelding 7: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MBC-patiënten met NPD of PD bij het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek (N = 138)



Abbeelding 8: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC bij de eerste follow-up na instelling van de therapie (N = 138)



Abbeelding 9: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MBC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC binnen ± 1 maand na het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek (N = 134)



1.4.5 Concordanties tussen CTC en radiologische monitoring

Zoals hierboven opgemerkt, vormen beeldvormende onderzoeken een belangrijk onderdeel van de huidige zorgstandaard voor het bepalen van de ziekteprogressie en de respons op de behandeling bij gemetastaseerde borstkanker. Om de doeltreffendheid van CTC bij het uitvoeren van deze klinische beoordelingen verder te ondersteunen (*Clin. Cancer Res.* Vol 12: 6403-6409, november 2006), zijn met gebruikmaking van de eerder beschreven criteria overeenkomende en strijdige observaties tussen CTC en radiologische beeldvorming twee aan twee getabelliseerd.

Met gebruikmaking van uitsluitend het eerste bij follow-up uitgevoerd beeldvormende onderzoek werd de radiologische respons bij dit bezoek vergeleken met de CTC-resultaten die binnen ± één maand na dit beeldvormende onderzoek werden verkregen. In totaal 134 van de 138 MBC-patiënten (97%) hadden CTC-resultaten die aan dit criterium voldeden. Het resultaat van deze vergelijking per patiënt tussen CTC en beeldvormend onderzoek wordt getoond in **tabel 8**.

Tabel 8: Vergelijking per patiënt van CTC en beeldvormend onderzoek voor MBC

Respons bij eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek	CTC binnen ± 1 maand na beeldvormend onderzoek		Totaal
	< 5 CTC/7,5 mL	≥ 5 CTC/7,5 mL	
Niet-progressieve ziekte	85	9	94
Progressieve ziekte	20	20	40
Totaal	105	29	134

Meting	Geschat	Ondergrens 95% CI	Bovengrens 95% CI
Positief % overeenstemming	50%	34%	66%
Negatief % overeenstemming	90%	83%	96%
Positieve voorspelde waarde	69%	49%	85%
Negatieve voorspelde waarde	81%	72%	88%
Algehele overeenstemming	78%	70%	85%
Odds ratio	9,4	3,4	26,8

Met gebruikmaking van alle beeldvormende onderzoeken bij follow-up die na instelling van de therapie zijn uitgevoerd bij de 138 MBC-patiënten en die bruikbare radiologische resultaten voor de respons opleverden (n = 225), werden deze resultaten vervolgens vergeleken met de CTC-resultaten die binnen ± één maand na het beeldvormende onderzoek werden verkregen. In totaal 219 van de 225 (97%) beeldvormende onderzoeken hadden CTC-resultaten die aan dit criterium voldeden. Het resultaat van deze vergelijking per observatie tussen CTC en beeldvormend onderzoek wordt getoond in tabel 9.

Tabel 9: Vergelijking per observatie van CTC en beeldvormend onderzoek voor MBC

Respons bij alle, bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoeken	CTC binnen ± 1 maand na beeldvormend onderzoek		Totaal
	< 5 CTC/7,5 mL	≥ 5 CTC/7,5 mL	
Niet-progressieve ziekte	151	16	167
Progressieve ziekte	30	22	52
Totaal	181	38	219

Meting	Geschat	Ondergrens 95% CI	Bovengrens 95% CI
Positief % overeenstemming	42%	29%	57%
Negatief % overeenstemming	90%	85%	94%
Positieve voorspelde waarde	58%	41%	74%
Negatieve voorspelde waarde	83%	77%	89%
Algehele overeenstemming	79%	73%	84%
Odds ratio	6,9	3,0	15,8

Bij seriële waarnemingen was slechts een minderheid van de transities voor de resultaten van beeldvormend onderzoek tussen niet-progressieve ziekte en progressieve ziekte identiek met een overeenkomende transitie van CTC-tellingen tussen < 5 en ≥ 5 CTC/7,5 mL.

Omdat de prognostische waarde van de CTC-resultaten op een vroeger tijdstip gelijk was aan die van de CTC-resultaten ten tijde van het beeldvormende onderzoek (afbeelding 8 en afbeelding 9), werd er een vergelijking per patiënt uitgevoerd met gebruikmaking van de resultaten van uitsluitend het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek (ongeveer 9 weken na instelling van de therapie verricht) en de CTC-resultaten verkregen bij de eerste follow-up (ongeveer 4 weken na instelling van de therapie verricht). Alle 138 MBC-patiënten hadden CTC-resultaten die aan dit criterium voldeden. Het resultaat van deze vergelijking per patiënt tussen CTC op een eerder tijdstip en beeldvormend onderzoek wordt getoond in tabel 10.

Tabel 10: Vergelijking per patiënt van CTC en beeldvormend onderzoek voor MBC

Respons bij eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek	CTC bij eerste follow-up		Totaal
	< 5 CTC/7,5 mL	≥ 5 CTC/7,5 mL	
Niet-progressieve ziekte	84	12	96
Progressieve ziekte	20	22	42
Totaal	104	34	138

Meting	Geschat	Ondergrens 95% CI	Bovengrens 95% CI
Positief % overeenstemming	52%	36%	68%
Negatief % overeenstemming	88%	79%	93%
Positieve voorspelde waarde	65%	46%	80%
Negatieve voorspelde waarde	81%	72%	88%
Algehele overeenstemming	77%	69%	84%
Odds ratio	7,7	3,0	19,9

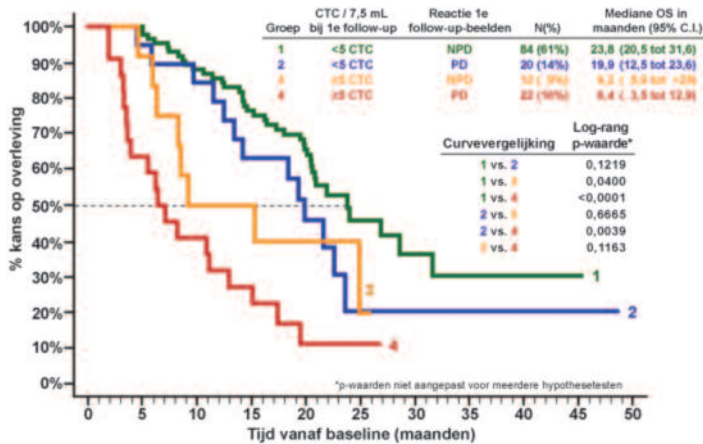
1.4.6 CTC als toevoeging aan beeldvormend onderzoek

Terwijl CTC en beeldvormend onderzoek in het algemeen goed met elkaar overeenkwamen (ongeveer 78%), was er bij ongeveer 22% van de MBC-patiënten een verschil. Daar de informatie van CTC-beoordelingen bedoeld is om te worden gebruikt in combinatie met andere diagnostische modaliteiten om beslissingen inzake een behandeling te nemen, zijn de CTC-beoordeling bij eerste follow-up (ongeveer 4 weken na instelling van de therapie) en het beeldvormende onderzoek in de volgende groepen vergeleken met de OS om te bepalen welke van de strijdige resultaten beter de prognose van de patiënt weergaven (**afbeelding 10**):

- Groep 1 (groene curve), 84 (61%) patiënten met < 5 CTC bij eerste follow-up en NPĐ;
- Groep 2 (blauwe curve), 20 (14%) patiënten met < 5 CTC bij eerste follow-up en PD;
- Groep 3 (oranje curve), 12 (9%) patiënten met ≥ 5 CTC bij eerste follow-up en NPĐ;
- Groep 4 (rode curve), 22 (16%) patiënten met ≥ 5 CTC bij eerste follow-up en PD;

In dit onderzoek is de bepaling van CTC een sterke onafhankelijke voorspellende factor voor de algehele overleving. De onderzoeksresultaten gaven aan dat de combinatie van CTC en radiologische beoordelingen de nauwkeurigheid beoordeelt van de prognose oplevert.

Afbeelding 10: OS van MBC-patiënten in groep 1, 2, 3 en 4 met gebruikmaking van de 1e CTC-beoordeling bij follow-up na instelling van therapie (n = 138) en de ziektestatus zoals vastgesteld bij van het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek.



1.5 Variabiliteit van CTC en radiologische beoordelingen

1.5.1 CTC

De interindividuele variaties tussen de readers voor de CTC-tellingen bij de eerste bloedafname bij follow-up werden bepaald door telling van het aantal gevallen waarin de laborant op de onderzoekslocatie afweek van het centrale laboratorium bij het classificeren van een monster als ≥ 5 CTC versus < 5 CTC. In een subgroep van 71 patiënten werden twee buisjes bloed afgenomen en verwerkt, en werd de classificatie van ≥ 5 CTC versus < 5 CTC in elk van de twee buisjes zoals vastgesteld op de locatie als door het centrale laboratorium met elkaar vergeleken.

1.5.2 Beeldvormend onderzoek

De interindividuele variabiliteit werd vastgesteld aan de hand van een vergelijking van de radiologische interpretaties van de twee radiologen, geclassificeerd als NPĐ vs. PD. De intra-individuele variabiliteit werd berekend door de radiologische interpretaties van de twee radiologen in een subgroep van patiënten met elkaar te vergelijken, waarbij elke radioloog de respons tijdens drie verschillende sessies vaststelde, met een interval van minimaal één week tussen de sessies. Ook werden er bij deze 138 MBC-patiënten een beperkt aantal beelden van latere beoordelingen en CTC-beoordelingen van vóór instelling van de therapie en bij latere follow-ups onderzocht.

Tabel 11: Variabiliteit van radiologische en CTC-beoordelingen bij MBC-patiënten

	n	Radiologie NPD vs. PD verschil	n	CTC/7,5 mL 5 vs. 5 verschil
<i>Interindividueel</i>				
Eerste follow-up	132	11,4%	138	0,7%
Een follow-up	217	13,4%	695	1,0%
<i>Intra-individueel</i>				
Eerste follow-up				
Reader 1 (radiologie)	24	25,0%	—	—
Reader 2 (radiologie)	22	9,1%	—	—
Een follow-up				
Reader 1 (radiologie)	30	20,0%	—	—
Reader 2 (radiologie)	28	10,7%	—	—
<i>CTC tussen buisjes onderling</i>				
Eerste follow-up	—	—	71	5,6%
Een follow-up	—	—	403	5,5%

Tabel 11 laat zien dat de interindividuele variatie tussen de radiologische beoordelingen significant hoger was bij zowel de eerste follow-upbeoordeling van de ziekte als bij alle volgende follow-upbeoordelingen van de ziekte dan de interindividuele variatie tussen de CTC-tellingen in dezelfde groepen (Fisher's $P < 0,001$).

In gevallen waar de CTC en radiologische beoordeling strijdig waren, leverde CTC de nauwkeurigste beoordeling van de prognose op.

2 Patiënten met gemetastaseerde colorectale kanker (MCRC)

Er is een multicentrisch, prospectief klinisch onderzoek uitgevoerd om vast te stellen of het aantal CTC ziekteprogressie en overleving voorspelde. In dit onderzoek werden patiënten met gemetastaseerde colorectale kanker ($N = 430$) opgenomen die met een nieuwe therapielijn begonnen. De klinische gegevens werden geanalyseerd op een intent-to-treat-basis. De demografische informatie van de patiënten staat vermeld in **tabel 12**.

Voorafgaand aan de instelling van een nieuwe therapielijn werd bij baseline een CTC-telling uitgevoerd. Na instelling van de therapie werden ongeveer elke 3 tot 4 weken follow-up CT-tellingen uitgevoerd. Voor de baselineanalyses werd de progressievrije overleving (PFS) gemeten vanaf het tijdstip van de bloedafname bij baseline tot de diagnose van progressie door middel van CT-scans en/of klinische klachten en verschijnselen. De algehele overleving (OS) werd gemeten vanaf het tijdstip van de bloedafname bij baseline tot het moment van overlijden. Voor de follow-upanalyses werd de PFS gemeten vanaf het tijdstip van de bloedafname bij follow-up tot de diagnose van progressie of tot overlijden. De OS werd gemeten vanaf het tijdstip van de bloedafname bij follow-up tot het moment van overlijden.

Tabel 12: Demografische gegevens MCRC-patiënten

Categorie		N = 430 patiënten
Leeftijd bij baseline (in jaren)	Gemiddelde ± standaard- deviatie (mediaan)	63,0 ± 12,6 (64)
Jaren tot metastasering	Gemiddelde ± standaard- deviatie (mediaan)	0,9 ± 1,4 (0,1)
	Beschrijving van categorieën	Aantal proefpersonen (% van totaal)
Geslacht	Vrouw	192 (45%)
	Man	238 (55%)
Ras	Blank	305 (71%)
	Zwart	44 (10%)
	Anders	12 (3%)
	Onbekend	69 (16%)
ECOG-score bij baseline	0	196 (46%)
	1	187 (43%)
	2	31 (7%)
	Onbekend	16 (4%)
Tumortype bij primaire diagnose	Colon	292 (68%)
	Rectaal	71 (17%)
	Colorectaal	66 (15%)
	Onbekend	1 (0%)
Stadium bij primaire diagnose	1	12 (3%)
	2	45 (11%)
	3	118 (27%)
	4	232 (54%)
Levermetastasen	Onbekend	23 (5%)
	Nee	117 (27%)
Therapielij	Ja	313 (73%)
	Eerstelijns	309 (72%)
	tweedelijns	95 (22%)
Type therapie	derdelijns	26 (6%)
	Bevacizumab	243 (56%)
	Irinotecan	103 (24%)
	Oxaliplatine	253 (59%)
	Onbekend	25 (6%)

2.1 CTC-frequenties

Van het totale aantal van 430 MCRC-patiënten werd bij 9 personen bij baseline bloed afgenomen maar niet bij follow-up. Van deze 9 patiënten overleden er vier voordat bij follow-up bloed kon worden afgenomen, staakten twee de therapie vanwege aan de behandeling gerelateerde toxiciteit, had één patiënt een chirurgische ingreep ondergaan om de meetbare ziekte te verwijderen, weigerde één patiënt verdere behandeling en één patiënt verdere bloedafnamen. Van de resterende patiënten werd er bij 362, 342, 321 en 211 bij follow-up respectievelijk 1-2 weken, 3-5 weken, 6-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie bloed afgenomen. Het verschil in het aantal patiënten dat op elk tijdstip voor beoordeling van de PFS en OS in aanmerking kwam, is toe te schrijven aan de progressie bij enkele patiënten voorafgaand aan de bloedafname, terwijl het verschil in het aantal patiënten op elk tijdstip te wijten is aan het aantal patiënten met bloedafnamen en beoordeelbare CTC-resultaten.

Tabel 13 toont de aantallen patiënten op elk tijdstip die werden uitgesloten van de analyses van PFS, OS of PFS & OS en de reden van de uitsluiting.

Tabel 13: Uitsluitingen van analyses van progressievrije en algehele overleving bij MCRC-patiënten

Tijdstip bloedafname	Redenen voor uitsluiting van MCRC-patiënten van analyses:						Totaal aantal beoordeelbare MCRC-patiënten:	
	PFS en OS				Uitsluitend PFS	Uitsluitend OS		
	Geen bloed afgenomen	Bloed afgenomen 1-7 dagen na toediening van therapie	Geen follow- up na datum bloedafname	Niet- beoordeelbare CTC -resultaten	Bloed afgenomen na datum van ziekte progressie	Geen follow-up na datum van bloedafname	PFS	OS
Baseline	1	11	0	5	0	0	413	413
1-2 weken	68	0	0	5	1	0	356	357
3-5 weken	88	0	1	8	4	0	329	333
6-12 weken	109	0	4	7	26	0	284	310
13-20 weken	219	0	9	8	14	1	180	193

De CTC-resultaten die verkregen werden uit de bloedafnamen bij follow-up bij 1-2 weken, 3-5 weken, 6-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie, werden geclassificeerd als gunstig (< 3 CTC) of ongunstig (≥ 3 CTC). Als meer dan één CTC-resultaat werd verkregen binnen een van de aangegeven follow-up-tijdstippen, werd het CTC-resultaat van de bloedafname het verst van de bloedafname bij baseline gebruikt.

Tabel 15 geeft een samenvatting van het totale aantal MCRC-patiënten en het percentage patiënten met een ongunstige CTC in het klinische onderzoek die verschillen van de aantallen en percentages patiënten voor progressievrije overleving zoals weergegeven in **tabel 14**.

2.2 Analyse van de progressievrije overleving (PFS) van MCRC-patiënten

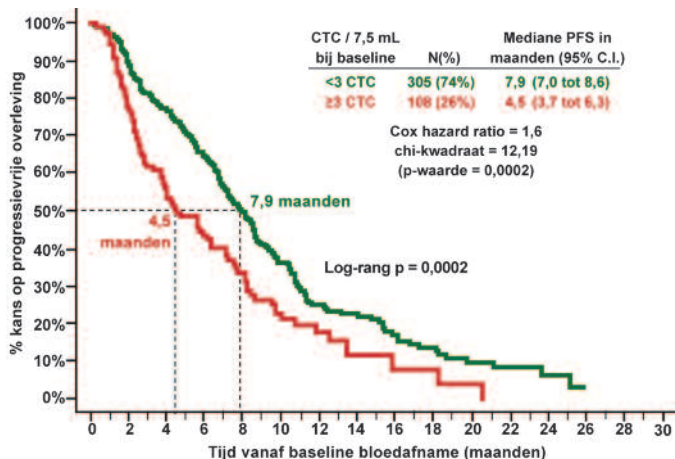
2.2.1 PFS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline

Van 413 van de 430 MCRC-patiënten was er een baseline CTC-resultaat beschikbaar. Voor de Kaplan-Meieranalyse werden de patiënten opgedeeld in twee groepen op grond van hun CTC-telling bij de baseline:

- De gunstige groep (N = 305), weergegeven in **groen**, bestond uit patiënten met < 3 CTC.
- De ongunstige groep (N = 108), weergegeven in **rood**, bestond uit patiënten met ≥ 3 CTC.

De mediane PFS was in de gunstige groep significant langer dan in de ongunstige groep (respectievelijk 7,9 vs. 4,5 maanden). De resultaten zijn weergegeven in afbeelding 11 en **tabel 14**.

Afbeelding 11: PFS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC bij baseline (N = 413).

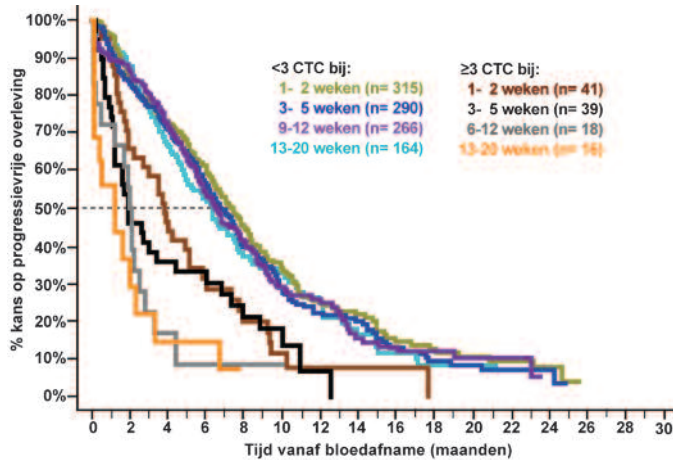


2.2.2 PFS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij follow-up

Voor de Kaplan-Meieranalyse werden de MCRC-patiënten opgedeeld in twee groepen op grond van hun CTC-telling ten tijde van elk van de verschillende bloedafnames bij follow-up. Beide patiëntgroepen op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafnames bij follow-up na instelling van de therapie voor PFS, staan weergegeven in **afbeelding 12**. De PFS-perioden werden berekend vanaf het tijdstip van elke bloedafname, en elke patiënt die voorafgaand aan een specifieke bloedafname aanwijzingen vertoonde van progressie, werd uitgesloten van de analyse van deze en alle volgende bloedafnames bij follow-up. **Afbeelding 12** geeft het vermogen weer van CTC bij MCRC-patiënten met < 3 en ≥ 3 CTC 1-2 weken, 3-5 weken, 6-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie om de PFS te voorspellen.

- De gunstige groep, weergegeven in **olijfgroen**, **blauw**, **paars** en **cyaan**, bestond uit patiënten met < 3 CTC,
- De ongunstige groep, weergegeven in **bruin**, **zwart**, **grijs** en **oranje**, bestond uit patiënten met ≥ 3 CTC.

Afbeelding 12: PFS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC op verschillende follow-upmomenten



Tabel 14 geeft een samenvatting van de resultaten van de PFS-analyse met gebruikmaking van de CTC-waarden en een drempel van ≥ 3 CTC/7,5 mL op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafname.

Tabel 14: Progressievrije overleving (PFS) voor MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC op verschillende tijdstippen

1	2	3	4	5	6
Bemonsteringstijd na instelling van Tx	N	≥ 3 CTC	Mediane PFS in maanden (95% CI)		Log-rangorde p-waarde
			< 3 CTC	≥ 3 CTC	
Baseline	413	108 (26%)	7,9 (7,0 - 8,6)	4,5 (3,7 - 6,3)	0,0002
1-2 weken	356	41 (12%)	7,3 (6,5 - 8,1)	3,8 (1,9 - 5,1)	<0,0001
3-5 weken	329	39 (12%)	6,8 (6,1 - 7,6)	1,9 (1,2 - 4,4)	<0,0001
6-12 weken	284	18 (6%)	6,5 (5,8 - 7,7)	2,0 (0,5 - 2,5)	<0,0001
13-20 weken	180	16 (9%)	6,3 (4,9 - 7,4)	1,2 (0,1 - 2,3)	<0,0001

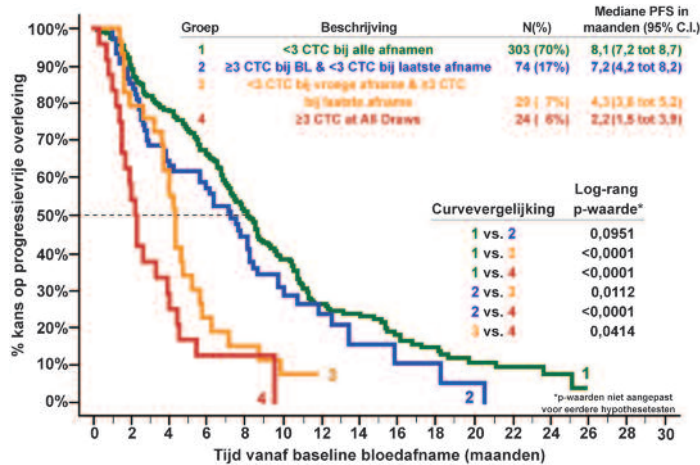
Zoals getoond in **afbeelding 12** en **tabel 14**, hadden patiënten met een verhoogde CTC (≥ 3 CTC/7,5 mL volbloed) op elk willekeurig tijdstip een veel grotere kans op een snelle progressie dan degenen met < 3 CTC. **Tabel 14** kolom 4 toont de mediane PFS-perioden voor de patiënten met < 3 CTC variërend van 6,3 tot 7,9 maanden; deze waren aanzienlijk langer dan de mediane PFS-tijden voor de patiënten met ≥ 3 CTC, die varieerden van 1,2 tot 4,5 maanden (kolom 5).

2.2.3 Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde PFS

Verstreken PFS-tijden werden berekend vanaf de bloedafname bij baseline. Voor de Kaplan-Meieranalyse (**afbeelding 13**) werden de patiënten opgedeeld in vier groepen op grond van hun CTC-telling bij baseline, 1-2 weken, 3-5 weken, 6-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie:

- Groep 1 (**groene** curve), 303 (70%) patiënten met < 3 CTC op alle tijdstippen. Bij zeven (2%) van deze patiënten was uitsluitend bij baseline bloed afgenomen terwijl bij acht (3%) maar één keer bloed was afgenomen tussen de eerste en laatste bloedafname met ≥ 3 CTC;
- Groep 2 (**blauwe** curve), 74 (17%) patiënten met ≥ 3 CTC voorafgaand aan instelling van de therapie maar die waren gedaald tot < 3 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 3 (**oranje** curve), 29 (7%) patiënten met < 3 CTC bij een vroege afname (baseline, 1-2 weken en/of 3-5 weken) maar die waren gestegen tot ≥ 3 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 4 (**rode** curve), 24 (6%) patiënten met ≥ 3 CTC op alle tijdstippen van bloedafname. Bij drie (13%) van deze patiënten was alleen bij baseline bloed afgenomen, bij één (4%) uitsluitend na 3-5 weken en bij één (4%) maar één keer tussen de eerste en laatste bloedafname met < 3 CTC.

Afbeelding 13: Een afname in CTC tot lager dan 3 na instelling van de therapie voorspelt een langere PFS bij MCRC-patiënten



Afbeelding 13 laat zien dat MCRC-patiënten met ≥ 3 CTC op alle tijdstippen (**groep 4**) de kortste mediane PFS hadden, die significant verschilde van de mediane PFS van **groep 3**, **groep 2** en **groep 1**. Het verschil in de mediane PFS tussen de patiënten met een CTC-afname na instelling van de therapie (**groep 2**) was aanzienlijk langer dan bij de patiënten met een CTC-toename (**groep 3**).

2.3 Analyse van de algehele overleving (OS) van MCRC-patiënten

2.3.1 OS-analyse met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline

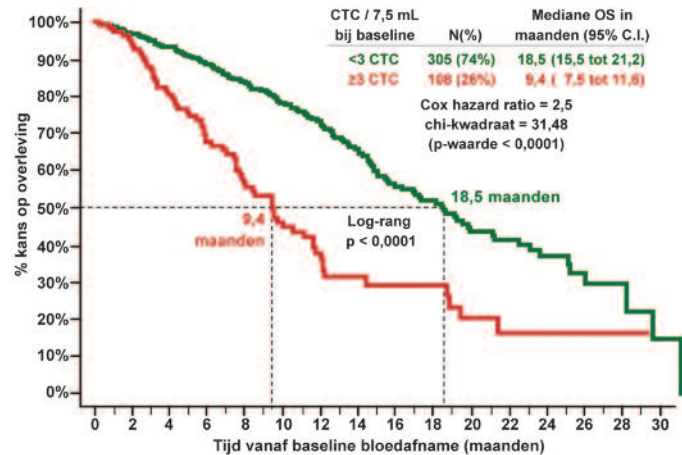
Tweehonderdtwee (202) (47%) van de 430 MCRC-patiënten overleden, met een gemiddelde follow-up tijd voor de 228 (53%) nog levende patiënten van $12,6 \pm 6,5$ maanden (mediaan = 11,0, spreiding = 0,8 tot 30,0). Ten tijde van deze analyses waren 124 (41%) van de 305 patiënten uit de gunstige groep (< 3 CTC bij baseline) overleden versus 68 (63%) van de 108 uit de ongunstige groep (≥ 3 CTC bij baseline).

Voor de Kaplan-Meieranalyse werden de patiënten opgedeeld in twee groepen op grond van hun CTC-telling bij de baseline:

- De gunstige groep (N = 305), weergegeven in **groen**, bestond uit patiënten met < 3 CTC.
- De ongunstige groep (N = 108), weergegeven in **rood**, bestond uit patiënten met ≥ 3 CTC.

De mediane PFS was in de gunstige groep significant langer dan in de ongunstige groep (respectievelijk 18,5 vs. 9,4 maanden). De resultaten zijn weergegeven in **afbeelding 14**.

Afbeelding 14: OS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC bij baseline (N = 413).

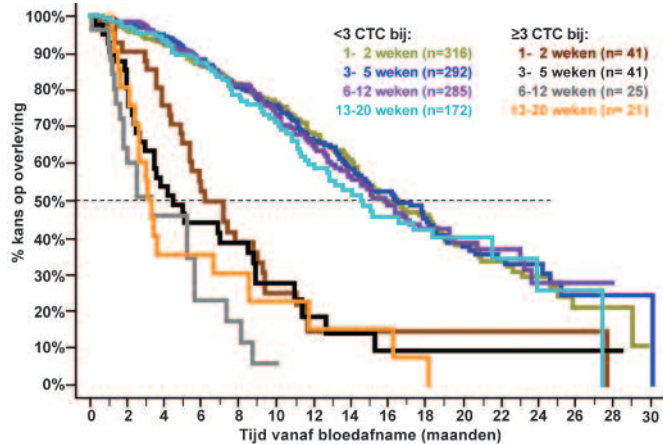


2.3.2 OS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij follow-up

De Kaplan-Meieranalyses van beide MBC-patiëntengroepen op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafname bij follow-up na instelling van de therapie staan weergegeven in **afbeelding 15**. Deze afbeelding toont het vermogen van CTC om bij MCRC-patiënten met < 3 en ≥ 3 CTC bij 1-2 weken, 3-5 weken, 6-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie de tijd tot overlijden te voorspellen bij 421 patiënten met colorectale kanker. De OS-perioden werden berekend vanaf het tijdstip van elke bloedafname.

- De gunstige groep, weergegeven in **olijfgroen, blauw, paars en cyaan**, bestond uit patiënten met < 3 CTC,
- De ongunstige groep, weergegeven in **bruin, zwart, grijs en oranje**, bestond uit patiënten met ≥ 3 CTC.

Afbeelding 15: OS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC op verschillende tijdstippen tijdens follow-up.



Tabel 15 is een samenvatting van de resultaten van de OS-analyse met gebruikmaking van de CTC-waarden en een drempel van ≥ 3 CTC/7,5 mL op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafname.

Tabel 15: Algehele overleving (OS) voor MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC op verschillende tijdstippen

1	2	3	4	5	6
Bemonsteringstijd na instelling van Tx	N	≥ 3 CTC	Mediane OS in maanden (95% CI)		Log-rangorde p-waarde
			< 3 CTC	≥ 3 CTC	
Baseline	413	108 (26%)	18,5 (15,5 - 21,2)	9,4 (7,5 - 11,6)	<0,0001
1-2 weken	357	41 (11%)	15,7 (14,3 - 18,4)	6,1 (4,9 - 8,9)	<0,0001
3-5 weken	333	41 (12%)	16,4 (14,1 - 18,3)	4,4 (2,6 - 8,7)	<0,0001
6-12 weken	310	25 (8%)	15,8 (13,8 - 19,2)	3,3 (1,8 - 5,6)	<0,0001
13-20 weken	193	21 (11%)	14,6 (12,0 - 21,5)	3,3 (2,4 - 8,5)	<0,0001

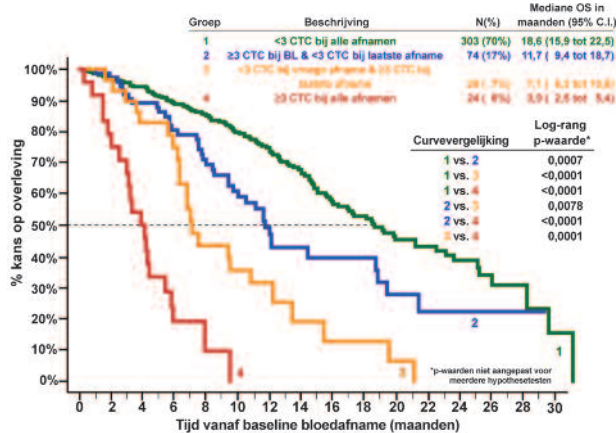
Zoals getoond in afbeelding 15 en tabel 15, in kolom 4 en 5, hadden MCRC-patiënten met ≥ 3 CTC op elk willekeurig tijdstip een veel hogere kans op eerder overlijden dan degenen met < 3 CTC. De mediane OS-perioden voor de patiënten met < 3 CTC varieerden van 14,6 tot 18,5 maanden en waren aanzienlijk langer dan de mediane OS-perioden voor de patiënten met ≥ 3 CTC, die varieerden van 3,3 tot 9,4 maanden.

2.3.3 Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde OS

Verstrekte OS-perioden werden berekend vanaf de bloedafname bij baseline. Voor de Kaplan-Meieranalyse (afbeelding 16) werden de patiënten opgedeeld in vier groepen op grond van hun CTC-telling bij baseline, 1-2 weken, 3-5 weken, 6-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie:

- Groep 1 (groene curve), 303 (70%) patiënten met < 3 CTC op alle tijdstippen. Bij zeven (2%) van deze patiënten was uitsluitend bij baseline bloed afgenomen terwijl bij acht (3%) maar één keer bloed was afgenomen tussen de eerste en laatste bloedafname met ≥ 3 CTC;
- Groep 2 (blauwe curve), 74 (17%) patiënten met ≥ 3 CTC voorafgaand aan instelling van de therapie maar die waren gedaald tot < 3 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 3 (oranje curve), 29 (7%) patiënten met < 3 CTC bij een vroege afname (baseline, 1-2 weken en/of 3-5 weken) maar die waren gestegen tot ≥ 3 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 4 (rode curve), 24 (6%) patiënten met ≥ 3 CTC op alle tijdstippen. Bij drie (13%) van deze patiënten was alleen bij baseline bloed afgenomen, bij één (4%) uitsluitend na 3-5 weken en bij één (4%) maar één keer tussen de eerste en laatste bloedafname met < 3 CTC.

Afbeelding 16: Een afname in CTC tot lager dan 3 na instelling van de therapie voorspelt een langere OS terwijl een toename in de CTC-telling tot 3 of hoger een kortere OS voorspelt bij MCRC-patiënten



Afbeelding 16 laat zien dat MCRC-patiënten die de drempel van 3 CTC op elk willekeurig moment na instelling van de therapie overschrijden, een veel grotere kans hadden op eerder overlijden. Patiënten met ≥ 3 CTC op alle tijdstippen (groep 4) hadden de kortste mediane OS, die significant verschilde van die van de mediane OS van groep 3, groep 2 en groep 1. Patiënten met < 3 CTC op alle tijdstippen (groep 1) hadden de langste mediane OS, die significant verschilde van die van de mediane OS van groep 4, groep 3 en groep 2. Afbeelding 16 laat ook zien dat patiënten met een afname in CTC (groep 2) een aanzienlijk lager risico op overlijden hadden dan de patiënten met een toename in CTC (groep 3).

2.3.4 Univariate Cox-regressieanalyse bij MCRC-patiënten

De volgende parameters werden met gebruikmaking van univariate Cox-regressieanalyse geanalyseerd om het verband tussen PFS en OS te beoordelen: geslacht, ziektestadium bij diagnose (1-4), tijd tot metastasering (continu), leeftijd patiënt (≥ 65 of < 65), plaats van de primaire ziekte (colorectaal of rectaal of colon), ECOG-status vóór instelling van een nieuwe therapielijn (0-2), therapielijn (1e, 2e of 3e), aanwezigheid van levermetastasen (ja of nee), type therapie (bevacizumab, irinotecan en/of inclusief oxaliplatine), CTC-tellingen bij baseline (≥ 3 of < 3 CTC/7,5 mL) en CTC-tellingen bij follow-up 1-2 weken, 3-5 weken, 6-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie (≥ 3 of < 3 CTC/7,5 mL). **Tabel 16** geeft de resultaten van deze analyse weer en toont de Cox hazard ratio (HR) en bijbehorende p-waarde (Waldtest of Z-statistiek) evenals het aantal patiënten bij elke beoordeling.

Tabel 16: Univariate Cox-regressieanalyse bij MCRC-patiënten

Parameter	Categorieën		Aantal MCRC-patiënten	PFS-risico vanaf baseline		OS-risico vanaf baseline	
	Positief	Negatief		HR	p-waarde	HR	p-waarde
Geslacht	Man (1)	Vrouw (0)	430	1,01	0,944	1,23	0,156
Stadium bij primaire diagnose	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		407	0,98	0,734	1,09	0,330
Tijd tot metastasering	Tijd in jaren		428	1,00	0,901	0,92	0,121
Leeftijd bij bloedafname bij baseline	≥ 65 jaar	< 65 jaar	430	1,65	$<0,001$	1,82	$<0,001$
Locatie van primaire ziekte	Colorectaal (2) vs. rectaal (1) vs. colon (0)		429	1,03	0,733	1,02	0,866
ECOG-status bij baseline	2 vs. 1 vs. 0		414	1,32	0,002	1,65	$<0,001$
Therapielijn	3 vs. 2 vs. 1		430	2,04	$<0,001$	1,63	$<0,001$
Levermetastasen	Ja	Nee	430	0,86	0,225	1,23	0,198
Bevacizumab	Ja	Nee	405	0,54	$<0,001$	0,62	0,001
Irinotecan	Ja	Nee	405	1,51	0,001	1,39	0,029
Oxaliplatine	Ja	Nee	405	0,53	$<0,001$	0,69	0,008
CTC-aantal bij baseline	≥ 3	< 3	413	1,59	$<0,001$	2,48	$<0,001$
CTC-aantal bij 1-2 weken	≥ 3	< 3	357	2,02	$<0,001$	3,23	$<0,001$
CTC-aantal bij 3-5 weken	≥ 3	< 3	334	2,19	$<0,001$	4,23	$<0,001$
CTC-aantal bij 6-12 weken	≥ 3	< 3	314	4,59	$<0,001$	10,88	$<0,001$
CTC-aantal bij 13-20 weken	≥ 3	< 3	203	5,07	$<0,001$	4,88	$<0,001$

2.3.5 Multivariate Cox-regressieanalyse bij MCRC-patiënten

Er zijn multivariate Cox-regressieanalyses uitgevoerd voor beoordeling van de onafhankelijke voorspellende power van de CTC-telling door correctie voor de effecten van de bekende belangrijke klinische factoren die statistisch gezien significant zijn met betrekking tot de univariate analyses. CTC bleek een sterke voorspellende factor te zijn voor de PFS en OS (**tabel 17**).

Tabel 17: Multivariate Cox-regressieanalyse bij MCRC-patiënten

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

2.4 Toepassing van CTC voor monitoring van de klinisch status van gemetastaseerde colorectale kanker

2.4.1 Relatie tussen overleving, CTC en ziektebeoordeling aan de hand van beeldvormend onderzoek

Radiologische beeldvorming is één van de primaire methoden om de ziektestatus en de respons op behandeling vast te stellen bij patiënten met gemetastaseerde colorectale kanker. Om de relatie van de klinische status vast te stellen zoals bepaald door beeldvormend onderzoek ten opzichte van CTC, werd de CTC op twee verschillende tijdstippen gemeten en werden de resultaten van beeldvormend onderzoek vergeleken 1) met het werkelijke klinische eindpunt van algehele overleving en 2) met elkaar.

2.4.2 CTC

Uit eerdere gegevens is gebleken dat patiënten met gemetastaseerde colorectale kanker met ≥ 3 CTC/7,5 mL bloed bij elk volgende follow-upbezoek na instelling van de therapie een grotere kans hadden op progressieve ziekte en kortere algehele overleving dan patiënten met < 3 CTC/7,5 mL bloed. De CTC-resultaten die 3-5 weken na instelling van de therapie werden verkregen, evenals de CTC-resultaten verkregen binnen $\pm$ één maand na het beeldvormende onderzoek, werden geclassificeerd als gunstig (< 3 CTC) en ongunstig (≥ 3 CTC). Als binnen $\pm$ één maand na het beeldvormende onderzoek meer dan één CTC-waarde werd verkregen, werd het CTC-resultaat het dichtst bij de datum van het beeldvormende onderzoek gebruikt.

2.4.3 Beeldvormend onderzoek

Bij iedere MCRC-patiënt moest de ziekte meetbaar zijn, d.w.z. minimaal één laesie van 2 cm tot en met maximaal 10 van dergelijke laesies. De voor elke patiënt toe te passen beeldvormende techniek werd vastgesteld door de behandelende oncoloog in overeenstemming met de huidige zorgstandaard. Er werd een CT of MRI van thorax, abdomen en bekken gemaakt met de eis dat alle laesies die op baseline werden gezien, bij elk volgende beeldvormende onderzoek met gebruikmaking van dezelfde methode in de tijd zouden worden gevolgd. De beeldinterpretatie werd uitgevoerd door een gecertificeerde radioloog op de deelnemende locatie aan de hand van RECIT unidimensionale criteria om elke beoordeling van de ziekte bij follow-up te classificeren als complete respons (CR), partiële respons (PR), stabiele ziekte (SD) of progressieve ziekte (PD).

Bij iedere patiënt werd op minimaal twee tijdstippen tot maximaal 8 verschillende tijdstippen beeldvormend onderzoek uitgevoerd. Deze onderzoeken omvatten beeldvormend onderzoek bij baseline, vervolgens elke 2 tot 3 maanden (6-12 weken) en een laatste beeldvormende onderzoek wanneer de patiënt stopte met het onderzoek. Er werden kopieën van alle beeldvormende onderzoeken van de patiënten doorgezonden naar de onderzoekscoördinator op elke klinische locatie, zodat deze konden worden opgeslagen bij de klinische gegevens van de patiënt.

Van de in totaal 430 beoordeelbare MCRC-patiënten die in het onderzoek waren opgenomen, werd bij 28 (7%) geen beeldvormend onderzoek bij follow-up uitgevoerd, overleden er 18 (4%) voordat bij follow-up beeldvormend onderzoek kon worden uitgevoerd en waren er van 384 (89%) bij follow-up één of meer beeldvormende onderzoeken uitgevoerd die aan de hand van de RECIST-criteria werden beoordeeld. Ten tijde van de eerste follow-up bij de 384 patiënten met beeldvormend onderzoek vertoonden 4 (1%) een complete respons, 117 (31%) een partiële respons, was bij 186 (48%) de ziekte stabiel en bij 77 (20%) progressief. Ten behoeve van deze analyses werd van de patiënten die vóór een bij follow-up uit te voeren beeldvormend onderzoek overleden, aangenomen dat bij hen sprake was geweest van progressieve ziekte.

Voor de respons op de therapie bij de eerste ziektebeoordeling bij follow-up werd de gunstige groep gedefinieerd als de groep met stabiele ziekte (S), partiële respons (PR) of complete respons (CR) volgens de RECIST-criteria (niet-progressieve ziekte, NPD), en de ongunstige groep als de groep met progressieve ziekte of die waren overleden (PD).

2.4.4 Relatie tussen overleving enerzijds en beeldvormend onderzoek en CTC anderzijds

Er zijn afzonderlijke Kaplan-Meieranalyses uitgevoerd voor vergelijking van de algehele overleving van MCRC-patiënten in de gunstige (< 3 CTC) en ongunstige (≥ 3 CTC) groep met gebruikmaking van de CTC-resultaten op twee verschillende tijdstippen en het eerste, bij follow-up uitgevoerde beeldvormend onderzoek. Met gebruikmaking van de resultaten van de eerste beeldvormende onderzoeken bij follow-up uitgevoerd bij 9,1 $\pm$ 2,9 weken (mediaan = 8,6 weken) na instelling van de therapie (d.w.z. de bloedafname bij baseline), was de mediane overleving van de 307 (76%) patiënten bij wie volgens het beeldvormende onderzoek sprake was van NPD, 19,1 maanden (95% CI = 17,0 tot 23,1) (**afbeelding 17, tabel 18**). Voor de 95 (24%) patiënten bij wie volgens beeldvormend onderzoek sprake was van PD, was de mediane overleving 5,8 maanden (95% CI = 4,4 tot 7,7).

Bij in totaal 320 MCRC-patiënten is beeldvormend onderzoek uitgevoerd voor en na instelling van een therapie, of ze overleden voor een beeldvormend onderzoek bij follow-up, en hun CTC werd 3-5 weken na instelling van de therapie beoordeeld (gemiddelde = $3,8 \pm 0,7$ weken vanaf de bloedafname bij baseline, mediaan = 4,0 weken). De mediane overleving van 282 (88%) patiënten met gunstige CTC-resultaten (< 3 CTC) was 17,3 maanden (95% CI = 15,0 tot 19,5 maanden) (**afbeelding 18, tabel 18**). De 38 patiënten (12%) met ongunstige CTC-resultaten (≥ 3 CTC) hadden een mediane overleving van 5,4 maanden (95% CI = 3,6 tot 9,4 maanden).

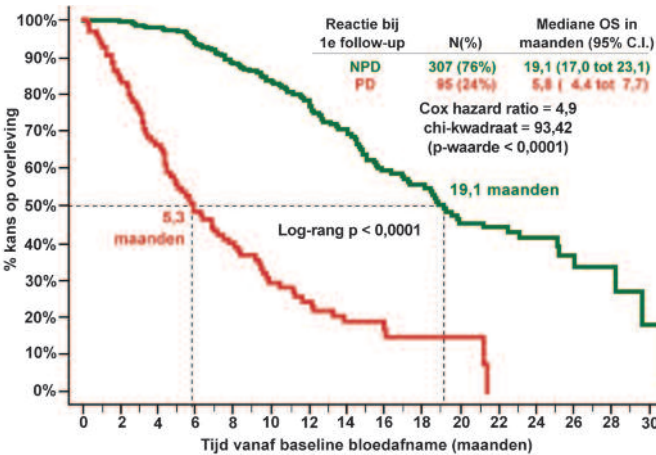
Om te bepalen of de CTC-beoordelingen die dichter bij het tijdstip van het beeldvormende onderzoek werden uitgevoerd, resulteerden in vergelijkbare vooruitzichten met betrekking tot overleving als CTC-beoordelingen die ongeveer 4 weken na instelling van de therapie werden uitgevoerd, werden uitsluitend de patiënten geanalyseerd met CTC-beoordelingen uitgevoerd binnen $\pm$ één maand na het eerste, bij follow-up verrichte beeldende onderzoek (**afbeelding 19, tabel 18**). Bij 364 van de 402 patiënten (91%) waren er CTC-beoordelingen binnen één maand na het eerste, bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek verricht, dat plaatsvond $9,0 \pm 2,9$ weken (mediaan = 8,5 weken) na instelling van de therapie. De mediane overleving van 335 (92%) patiënten met gunstige CTC-resultaten was 17,2 maanden (95% CI = 15,0 tot 19,2 maanden). Voor 29 (8%) van de patiënten met ongunstige CTC-resultaten was de mediane overleving 5,4 maanden (95% CI = 3,2 tot 7,5 maanden). Deze gegevens toonden aan dat CTC-beoordelingen op beide tijdstippen resultaten opleverden die overeenkwamen met beeldvormend onderzoek uitgevoerd ongeveer negen weken na instelling van de therapie.

Toepassing van multivariate Cox-regressieanalyse voor correctie van beeldvormend onderzoek wees in dit onderzoek uit dat zowel CTC als beeldvormend onderzoek bij 6-12 weken onafhankelijk samenhangen met de algehele overleving maar dat CTC [gecorrigeerde hazard ratio: 7,9 (4,6-13,6)] een sterkere voorspellende waarde heeft dan beeldvormend onderzoek [gecorrigeerde hazard ratio: 3,1 (2,1-4,6)].

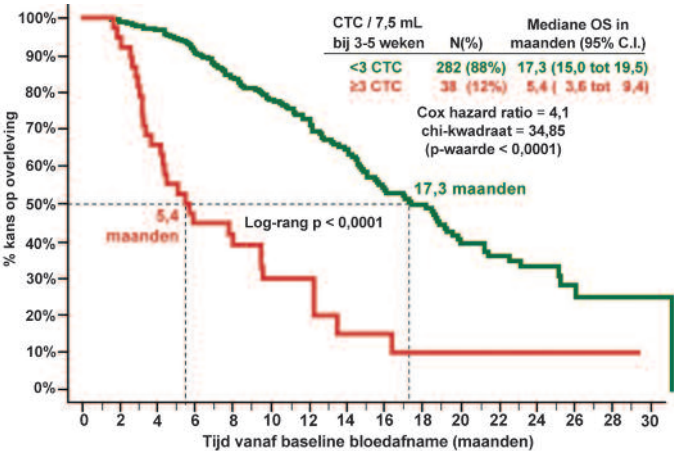
Tabel 18: OS van MCRC-patiënten met CTC-beoordeling ongeveer één maand na instelling van therapie en binnen één maand na de radiologische beoordeling

	N	Mediane overleving en (95% CI) in maanden
A. Beeldvormend onderzoek		
Gunstig (NPD)	307 (76%)	19,1 (17,0 – 23,1)
Ongunstig (PD)	95 (24%)	5,8 (4,4 – 7,7)
B. CTC bij 3-5 weken		
Gunstig (< 3 CTC)	282 (88%)	17,3 (15,0 - 19,5)
Ongunstig (≥ 3 CTC)	38 (12%)	5,4 (3,6 - 9,4)
C. CTC (±1 maand na beeldvormend onderzoek)		
Gunstig (< 3 CTC)	335 (92%)	17,2 (15,0 - 19,2)
Ongunstig (≥ 3 CTC)	29 (8%)	5,4 (3,2 - 7,5)

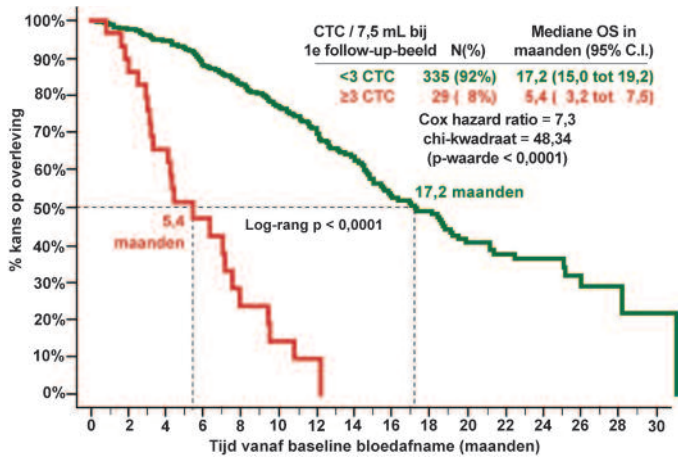
Afbeelding 17: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MCRC-patiënten met NPD of PD bij het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek (N = 402)



Afbeelding 18: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC bij de eerste follow-up na instelling van de therapie (N = 320)



Abbeelding 19: Correlatie tussen radiologische en CTC-beoordeling enerzijds en OS anderzijds: OS van MCRC-patiënten met < 3 of ≥ 3 CTC binnen ± 1 maand na het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek of tot overlijden (N = 364)



2.4.5 Concordanties tussen CTC en radiologische monitoring bij MCRC-patiënten

Zoals hierboven opgemerkt, vormen beeldvormende onderzoeken een belangrijk onderdeel van de huidige zorgstandaard voor het bepalen van de ziekteprogressie en de respons op de behandeling bij gemetastaseerde colorectale kanker. Om de effectiviteit van CTC bij het uitvoeren van deze klinische beoordelingen verder te ondersteunen, werden overeenkomende en strijdige observaties tussen CTC en radiologische beeldvorming twee aan twee getabelliseerd.

Voor de respons op de therapie werd de gunstige groep gedefinieerd als de groep met stabiele ziekte (S), partiële respons (PR) of complete respons (CR) volgens de RECIST-criteria (niet-progressieve ziekte, NPD), en de ongunstige groep als degene de groep met progressieve ziekte (PD). Van de 18 patiënten die vóór een bij follow-up uit te voeren beeldvormend onderzoek overleden, was bij 10 bij follow-up binnen 30 dagen voor overlijden bloed afgenomen; deze 10 patiënten werden voor deze vergelijkingen geïnclassificeerd als ‘met progressieve ziekte (PD)’.

De CTC-resultaten die binnen ± één maand na het beeldvormende onderzoek werden verkregen, werden geïnclassificeerd als gunstig (< 3 CTC) en ongunstig (≥ 3 CTC). Als binnen ± één maand na het beeldvormende onderzoek meer dan één CTC-waarde werd verkregen, werd het CTC-resultaat het dichtst bij de datum van het beeldvormende onderzoek gebruikt. In deze analyse werden alle beoordeelbare bloedafnamen van de patiënten gebruikt om CTC met de beeldende onderzoeken te laten overeenkomen, en niet uitsluitend degene die werden geselecteerd voor de vastgelegde tijdstippen zoals hierboven bij 2.1 beschreven.

In totaal 366 MCRC-patiënten hadden CTC-resultaten binnen één maand na het beeldvormende onderzoek of tot overlijden. Het resultaat van deze vergelijking per patiënt tussen CTC en beeldvormend onderzoek (of overlijden) wordt getoond in tabel 19.

Tabel 19: Vergelijking per patiënt van CTC en beeldvormend onderzoek voor MCRC

Respons bij het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek	CTC binnen ± 1 maand na beeldvormend onderzoek of tot overlijden		Totaal
	< 3 CTC/7,5 mL	≥ 3 CTC/7,5 mL	
Niet-progressieve ziekte	272	13	285
Progressieve ziekte	65	16	81
Totaal	337	29	366

Meting	Geschat	Ondergrens 95% CI	Bovengrens 95% CI
Positief % overeenstemming	20%	12%	30%
Negatief % overeenstemming	95%	92%	98%
Positieve voorspelde waarde	55%	36%	74%
Negatieve voorspelde waarde	81%	76%	85%
Algehele overeenstemming	79%	74%	83%
Odds ratio	5,2	2,4	11,2

Bij de 384 MCRC-patiënten met één of meer bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoeken zijn in totaal 911 beeldvormende onderzoeken uitgevoerd die een bruikbare radiologische respons opleverden. In totaal 805 van de 911 (88%) beeldvormende onderzoeken hadden CTC-resultaten die binnen ± één maand na het beeldvormende onderzoek waren verkregen. Van de 18 patiënten die vóór een bij follow-up uit te voeren beeldvormend onderzoek overleden, was bij 10 bij follow-up bloed afgenomen binnen 30 dagen voor overlijden en deze 10 patiënten werden voor deze vergelijking geëvalueerd als 'met progressieve ziekte (PD)'. Het resultaat van deze vergelijking per observatie tussen CTC en beeldvormend onderzoek (of overlijden) voor de 815 observaties wordt getoond in **tabel 20**.

Tabel 20: Vergelijking per observatie van CTC en beeldvormend onderzoek voor MCRC

Reactie bij alle, bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoeken	CTC binnen ± 1 maand na beeldvormend onderzoek of tot overlijden		Totaal
	<3 CTC/7,5 mL	≥ 3 CTC/7,5 mL	
Niet-progressieve ziekte	597	33	630
Progressieve ziekte	147	38	185
Totaal	744	71	815

Meting	Geschat	Ondergrens 95% CI	Bovengrens 95% CI
Positief % overeenstemming	21%	15%	27%
Negatief % overeenstemming	95%	93%	96%
Positieve voorspelde waarde	54%	41%	65%
Negatieve voorspelde waarde	80%	77%	83%
Algehele overeenstemming	78%	75%	81%
Odds ratio	4,7	2,8	7,7

Bij seriële observaties was slechts een minderheid van de transities voor de resultaten van beeldvormend onderzoek tussen niet-progressieve ziekte en progressieve ziekte identiek met een overeenkomende transitie van CTC-tellingen tussen < 3 en ≥ 3 CTC/7,5 mL.

Omdat de prognostische waarde van de CTC-resultaten op een vroeger tijdstip gelijk was aan die van de CTC-resultaten ten tijde van het beeldvormende onderzoek (**afbeelding 18** en **afbeelding 19**), werd er een vergelijking per patiënt uitgevoerd met gebruikmaking van de resultaten van uitsluitend het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek (ongeveer 9 weken na instelling van de therapie verricht) en de CTC-resultaten die ongeveer 4 weken na instelling van de therapie waren verkregen. In totaal 320 (80%) van de 402 patiënten hadden CTC-resultaten bij 3-5 weken na instelling van de therapie. Het resultaat van deze vergelijking per patiënt tussen CTC op een eerder tijdstip en beeldvormend onderzoek (of overlijden) wordt getoond in **tabel 21**.

Tabel 21: Vergelijking per patiënt van CTC en beeldvormend onderzoek voor MCRC

Reactie bij het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek	CTC bij 3-5 weken na instelling van de therapie		Totaal
	< 3 CTC/7,5 mL	≥ 3 CTC/7,5 mL	
Niet-progressieve ziekte	228	18	246
Progressieve ziekte	54	20	74
Totaal	282	38	320

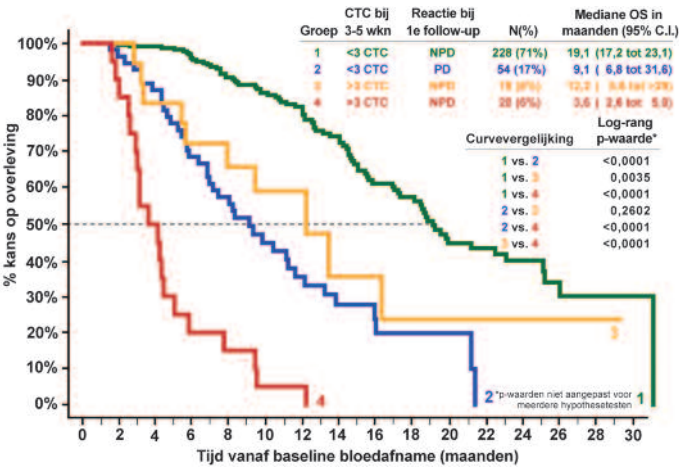
Meting	Geschat	Ondergrens 95% CI	Bovengrens 95% CI
Positief % overeenstemming	27%	17%	39%
Negatief % overeenstemming	93%	89%	96%
Positieve voorspelde waarde	53%	36%	69%
Negatieve voorspelde waarde	81%	76%	85%
Algehele overeenstemming	78%	73%	82%
Odds ratio	4,7	2,3	9,5

2.4.6 CTC als toevoeging aan beeldvormend onderzoek

Terwijl CTC en beeldvormend onderzoek in het algemeen goed met elkaar overeenkwamen (ongeveer 78%), was er bij ongeveer 22% van de MCRC-patiënten een verschil. Daar de informatie van CTC-beoordelingen bedoeld is om te worden gebruikt in combinatie met andere diagnostische modaliteiten om beslissingen inzake een behandeling te nemen, zijn de CTC-beoordeling 3-5 weken na instelling van de therapie en het beeldvormende onderzoek in de volgende groepen vergeleken met de OS om te bepalen welke van de strijdige resultaten beter de prognose van de patiënt weergaven (**afbeelding 20**):

- Groep 1 (**groene** curve), 228 (71%) patiënten met < 3 CTC na 3-5 weken en NPD;
- Groep 2 (**blauwe** curve), 54 (17%) patiënten met < 3 CTC na 3-5 weken en PD;
- Groep 3 (**oranje** curve), 18 (6%) patiënten met ≥ 3 CTC bij 3-5 weken en NPD;
- Groep 4 (**rood** curve), 20 (6%) patiënten met ≥ 3 CTC na 3-5 weken en PD;

Afbeelding 20: OS van MCRC-patiënten in groep 1, 2, 3 en 4 met gebruikmaking van de CTC bij 3-5 weken na instelling van de behandeling (n = 320) en de ziektestatus zoals vastgesteld bij het eerste bij follow-up uitgevoerde beeldvormende onderzoek.



In dit onderzoek is de bepaling van CTC een sterke onafhankelijke voorspellende factor voor de algehele overleving. De onderzoeksresultaten gaven aan dat de combinatie van CTC en radiologische beoordelingen de nauwkeurigste beoordeling van de prognose oplevert.

3 Patiënten met gemetastaseerde prostaatkanker (MPC)

Er is een multicentrisch, prospectief klinisch onderzoek uitgevoerd om vast te stellen of het aantal CTC ziekteprogressie en overleving voorspelde. In dit onderzoek werden patiënten met gemetastaseerde prostaatkanker gedefinieerd als patiënten met twee opeenvolgende stijgingen van de serummarker prostaatspecifiek antige (PSA) boven een referentiewaarde ondanks hormonale standaardbehandeling. De vorm van kanker bij deze patiënten wordt gewoonlijk aangeduid als androgeenonafhankelijke, hormoonresistente of castratieresistente prostaatkanker. In totaal werden er 231 patiënten met gemetastaseerde prostaatkanker met aanwijzingen voor PSA-progressie ondanks hormonale standaardtherapie en het instellen met een nieuwe lijn of type chemotherapie in het onderzoek opgenomen. De klinische gegevens werden geanalyseerd op een intent-to-treat-basis. De demografische informatie van de patiënten staat vermeld in **tabel 22**.

Tabel 22: Demografische gegevens MPC-patiënten

Categorie	Gemiddelde ± standaard- deviatie (mediaan)	Aantal proefpersonen
Leeftijd bij baseline (in jaren)	70 ± 9 (70)	231
Voor de therapie:		
PSA (ng/mL)	547 ± 1616 (144)	231
Hemoglobine (g/dL)	12,3 ± 1,6 (12,4)	221
Alkalische fosfatase (AlkFos) (IE/mL)	235 ± 271 (144)	223
Lactaatdehydrogenase (LDH) (IE/mL)	293 ± 228 (224)	219
Albumine (g/dL)	3,9 ± 2,6 (3,8)	214
	Beschrijving van categorieën	Aantal proefpersonen (% van totaal)
Ras	Blank Zwart Anders	209 (90%) 17 (7%) 5 (3%)
ECOG-score bij baseline	0 1 2 Onbekend	101 (44%) 100 (43%) 21 (9%) 9 (4%)
Gleason-score	≤5 6 7 8 ≥9 Onbekend	18 (8%) 28 (12%) 63 (27%) 45 (20%) 54 (23%) 23 (10%)
Stadium bij primaire diagnose	1 2 3 4 Onbekend	14 (6%) 30 (13%) 58 (25%) 19 (8%) 110 (48%)
Therapielijijn	1e 2e ≥3e	154 (67%) 38 (16%) 39 (17%)
Taxotere in huidige terapielijijn?	Nee Ja Onbekend	67 (29%) 162 (70%) 2 (1%)
Botmetastasen	Negatief Positief Onbekend	20 (8%) 207 (90%) 4 (2%)
Meetbare ziekte	Nee Ja Onbekend	142 (62%) 88 (38%) 1 (0%)
Viscerale metastasen	Nee Ja Onbekend	141 (61%) 89 (39%) 1 (0%)

Voorafgaand aan de instelling van een nieuwe chemotherapielijijn werd bij baseline een CTC-telling uitgevoerd. Voor beoordeling werden de onderstaande tijdsbestekken gekozen: baseline (voorafgaand aan de instelling van de therapie), 2-5 weken (14-41 dagen vanaf baseline), 6-8 weken (42-62 dagen vanaf baseline), 9-12 weken (63-90 dagen vanaf baseline) en 13-20 weken (91-146 dagen vanaf baseline) na instelling van de therapie. Als binnen de toegekende tijdsbestekken vaker dan één keer bloed was afgenomen, werd de bloedafname het verst van de bloedafname bij baseline als resultaat voor elk tijdsbestek gebruikt.

3.1 CTC-frequenties

Bij alle 231 beoordeelbare MPC-patiënten was bij baseline bloed afgenomen. Bij 221 van deze MPC-patiënten was bij follow-up na instelling van de therapie één of meer keren bloed afgenomen. Van de tien MPC-patiënten met uitsluitend een bloedafname bij baseline, waren er drie overleden voordat er bij follow-up bloed kon worden afgenomen, was er bij één sprake van progressie en opgenomen in een hospice, had er één de chemotherapeutische behandeling afgebroken vanwege een heupfractuur, was er één patiënt verhuisd, weigerden er drie verdere bloedafnames en had één zich uit het onderzoek teruggetrokken. Er waren in totaal 214, 171, 158 en 149 MPC-patiënten bij wie bij follow-up bij respectievelijk 2-5 weken, 6-8 weken, 9-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie bloed was afgenomen.

Bij gemetastaseerde prostaatkanker wordt de ziekteprogressie primair vastgesteld aan de hand van veranderingen in PSA. Voor dit onderzoek werd de ziekteprogressie bepaald door de locaties aan de hand van PSA-waarden, beeldvormend onderzoek en/of klinische klachten en verschijnselen. Voor de baselineanalyses werd de progressievrije overleving (PFS) bepaald vanaf het moment van de bloedafname bij baseline tot de vaststelling van progressie of overlijden; de algehele overleving (OS) werd bepaald vanaf het moment van de bloedafname bij baseline

tot de datum van overlijden of de datum van het laatste contact met de patiënt. Voor de follow-upanalyses werd de PFS bepaald vanaf het tijdstip van de bloedafname bij follow-up tot de diagnose van progressie of overlijden. De OS werd bepaald vanaf het tijdstip van de bloedafname bij follow-up tot de datum van overlijden of de datum van het laatste contact met de patiënt. Patiënten met progressie vóór de datum van de bloedafname die werd beoordeeld, werden uitgesloten van de PFS-analyses van dat tijdstip en van alle volgende voor follow-up uit te voeren bloedafnames. Patiënten zonder aanvullende follow-up wat betreft de overleving na de datum van de bloedafname die werd beoordeeld, werden uitgesloten van de PFS- en OS-analyses van dat tijdstip. **Tabel 23** toont de aantallen patiënten op elk tijdstip die waren uitgesloten van de analyses van de PSF of PFS & OS en de reden voor de uitsluiting.

Tabel 23: Uitsluiting van analyses van PFS en OS bij MPC-patiënten

Tijdstip bloedafname	MPC-patiënten niet beoordeelbaar:					Totaal aantal beoordeelbare MPC-patiënten	
	PFS en OS				Uitsluitend PFS	PFS	OS
	Geen bloed afgenomen	Bloed afgenomen 1-7 dagen na toediening van therapie	Geen follow-up na datum bloedafname	Geen of niet- beoordeelbare CTC - resultaten			
Baseline	0	6	0	6	0	219	219
2-5 weken	17	0	0	11	4	199	203
6-8 weken	60	0	0	8	22	141	163
9-12 weken	73	1	0	8	15	134	149
13-20 weken	82	0	1	5	27	116	143

De CTC-resultaten die verkregen werden uit de bloedafnames bij baseline en follow-up bij 2-5 weken, 6-8 weken, 9-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie, werden geclassificeerd als gunstig (< 5 CTC) of ongunstig (≥ 5 CTC). De waarden voor PSA, alkalische fosfatase en LDH die in de demografische tabel zijn samengevat en in de analyses worden gebruikt, werden alle gemeten in een centraal laboratorium in serummonsters die tegelijkertijd werden afgenomen als de bloedmonsters gebruikt voor de CTC-beoordeling. De hemoglobine- en albuminewaarden die in de tabellen zijn samengevat en in de analyses gebruikt, waren waarden die door de locaties werden verstrekt en waren geverifieerd in de medische dossiers van de patiënten, en die binnen ± 30 dagen van de CTC-beoordeling bij baseline waren bepaald.

3.2 Analyse van de progressievrije overleving (PFS) van MPC-patiënten

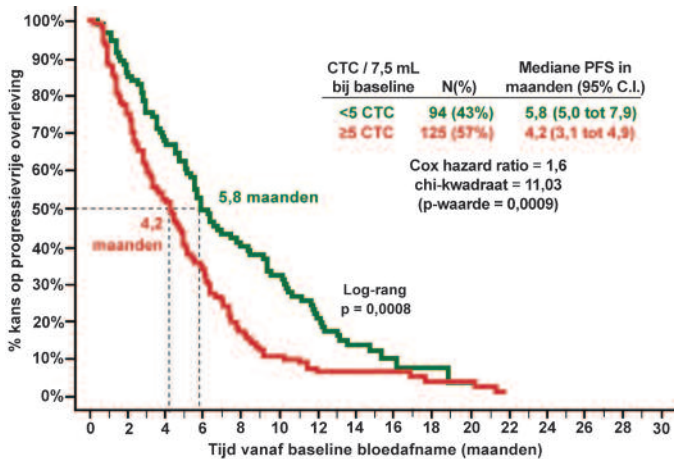
3.2.1 PFS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline

Van 219 van de 231 beoordeelbare patiënten was er een baseline CTC-resultaat beschikbaar. Voor de Kaplan-Meieranalyse werden de patiënten opgedeeld in twee groepen op grond van hun CTC-telling bij de baseline:

- De gunstige groep (N = 94), weergegeven in **groen**, bestond uit patiënten met < 5 CTC.
- De ongunstige groep (N = 125), weergegeven in **rood**, bestond uit patiënten met ≥ 5 CTC.

De mediane PFS was in de gunstige groep langer dan in de ongunstige groep (5,8 vs. 4,2 maanden, respectievelijk). De resultaten zijn weergegeven in **afbeelding 21** en **tabel 24**.

Afbeelding 21: PFS van MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC bij baseline (N = 219).

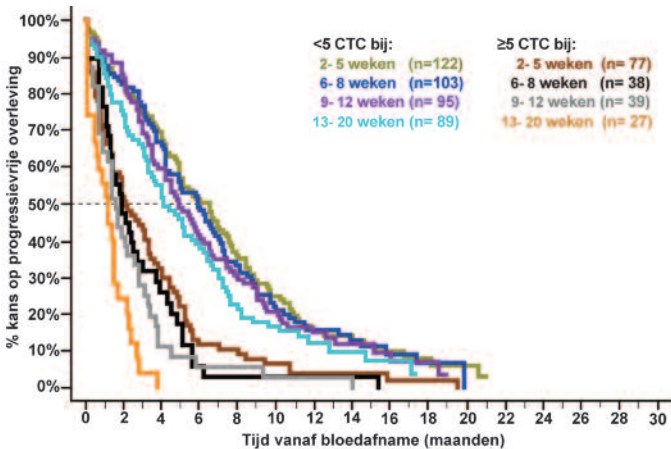


3.2.2 PFS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij follow-up

Voor de Kaplan-Meieranalyse werden MPC-patiënten opgedeeld in twee groepen op grond van hun CTC-telling ten tijde van elk van de verschillende bloedafnames bij follow-up. Beide patiëntgroepen op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafnames bij follow-up na instelling van de therapie voor PFS, staan weergegeven in **afbeelding 22**. Deze afbeelding toont het vermogen van CTC om bij MPC-patiënten met < 5 en ≥ 5 CTC bij 2-5 weken (n = 199), 6-8 weken (n = 141), 9-12 weken (n = 134) en 13-20 weken (n = 116) na instelling van de therapie de tijd tot klinische progressie of overlijden te voorspellen.

- De gunstige groep weergegeven in **olijfgroen, blauw, paars en cyaan**, bestond uit patiënten met < 5 CTC bij respectievelijk 2-5, 6-8, 9-12 en 13-20 weken na instelling van de therapie.
- De ongunstige groep weergegeven in **bruin, zwart, grijs en oranje**, bestond uit patiënten met ≥ 5 CTC bij respectievelijk 2-5, 6-8, 9-12 en 13-20 weken na instelling van de therapie.

Afbeelding 22: PFS van MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen tijdens follow-up



Tabel 24 geeft een samenvatting van de resultaten van de PFS-analyse met gebruikmaking van de CTC-waarden en een drempel van ≥ 5 CTC/7,5 mL op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafname.

Tabel 24: Progressievrije overleving (PFS) voor MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen

1	2	3	4	5	6
Bemonsteringstijd na instelling van Tx	N	≥ 5 CTC	Mediane PFS in maanden (95% CI)		Log-rangorde p-waarde
			< 5 CTC	≥ 5 CTC	
Baseline	219	125 (57%)	5,8 (5,0 – 7,9)	4,2 (3,1 – 4,9)	0,0008
2-5 weken	199	77 (39%)	6,5 (4,9 – 7,4)	2,1 (1,4 – 3,3)	<0,0001
6-8 weken	141	38 (27%)	5,9 (4,2 – 7,0)	1,9 (1,3 – 2,7)	<0,0001
9-12 weken	134	39 (24%)	4,9 (3,8 – 6,2)	1,6 (0,9 – 2,6)	<0,0001
13-20 weken	116	27 (23%)	4,1 (3,3 – 5,8)	1,2 (0,5 – 1,5)	<0,0001

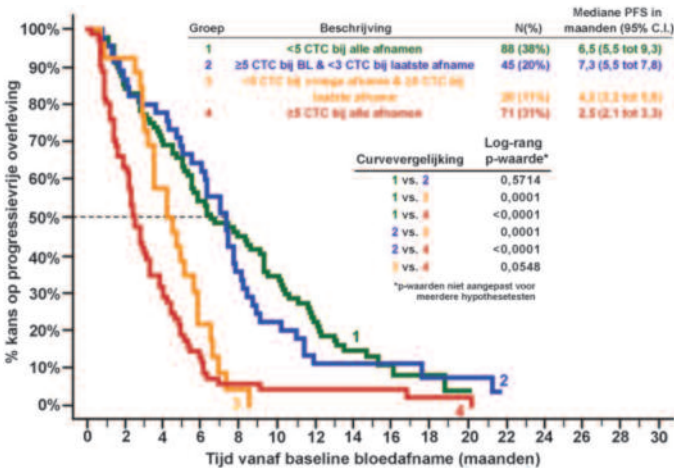
Zoals getoond in **afbeelding 22** en **tabel 24**, hadden MPC-patiënten met verhoogde CTC (≥ 5 CTC/7,5 mL volbloed) op elk willekeurig tijdstip een veel grotere kans op een snelle progressie dan degenen met < 5 CTC. **Tabel 24** kolom 4 toont de mediane PFS-perioden voor de patiënten met < 5 CTC variërend van 4,1 tot 6,5 maanden; deze waren aanzienlijk langer dan de mediane PFS-tijden voor de patiënten met ≥ 5 CTC, variërend van 1,2 tot 4,2 maanden (kolom 5).

3.2.3 Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde PFS

Verstreken PFS-tijden werden berekend vanaf de bloedafname bij baseline. Voor de Kaplan-Meieranalyse weergegeven in **afbeelding 23**, werden de MBC-patiënten opgedeeld in vier groepen op grond van hun CTC-telling bij baseline, 2-5 weken, 6-8 weken, 9-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie:

- Groep 1 (**groene** curve), 88 (38%) patiënten met < 5 CTC op alle tijdstippen. Bij vijf (6%) van deze patiënten was uitsluitend bij baseline bloed afgenomen terwijl er bij zeven (8%) maar één keer bloed was afgenomen tussen de eerste en laatste bloedafname met ≥ 5 CTC;
- Groep 2 (**blauwe** curve), 45 (20%) patiënten met ≥ 5 CTC voorafgaand aan instelling van de therapie maar die waren gedaald tot < 5 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 3 (**oranje** curve), 26 (11%) patiënten met < 5 CTC bij een vroege afname (baseline, 2-5 weken en/of 6-8 weken) maar die waren gestegen tot ≥ 5 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 4 (**rode** curve), 71 (31%) patiënten met ≥ 5 CTC op alle tijdstippen van bloedafname. Bij acht (11%) van deze patiënten was uitsluitend bij baseline bloed afgenomen en bij twee (3%) slechts één keer tussen de eerste en laatste bloedafname met < 5 CTC.

Afbeelding 23: Een afname in CTC tot lager dan 5 na instelling van de therapie voorspelt een langere PFS bij MPC-patiënten



Afbeelding 23 laat zien dat MPC-patiënten met ≥ 5 CTC op alle tijdstippen (**groep 4**) de kortste mediane PFS hadden, die significant verschilde van de mediane PFS van **groep 3**, **groep 2** en **groep 1**. Het verschil in de mediane PFS tussen de patiënten met een CTC-afname na instelling van de therapie (**groep 2**) was aanzienlijk langer dan bij de patiënten met een CTC-toename (**groep 3**).

3.3 Analyse van de algehele overleving (OS) van MPC-patiënten

3.3.1 OS-analyse met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij baseline

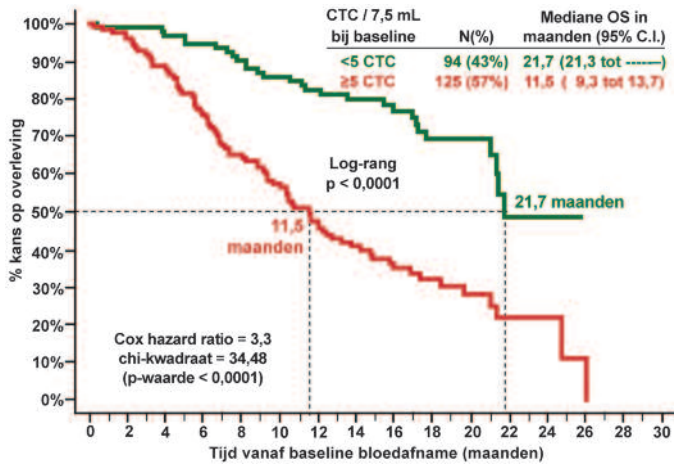
Honderdnegentien (119) (52%) van de 231 MPC-patiënten overleden, met een gemiddelde follow-up tijd voor de 112 (48%) nog levende patiënten van $16,1 \pm 4,9$ maanden (mediaan = 16,5, spreiding = 1,9 - 25,7 maanden). Ten tijde van deze analyses waren 28 (30%) van de 94 patiënten uit de gunstige groep (< 5 CTC bij baseline) overleden versus 83 (66%) van de 125 uit de ongunstige groep (≥ 5 CTC bij baseline).

Voor de Kaplan-Meieranalyse werden de 219 van de 231 beoordeelbare patiënten van wie baselineresultaten beschikbaar waren, opgedeeld in twee groepen op grond van hun CTC-telling bij baseline:

- De gunstige groep (N = 94), weergegeven in **groen**, bestond uit patiënten met < 5 CTC.
- De ongunstige groep (N = 125), weergegeven in **rood**, bestond uit patiënten met ≥ 5 CTC.

De mediane OS was in de gunstige groep significant langer dan in de ongunstige groep (respectievelijk 21,7 vs. 11,5 maanden). De resultaten zijn weergegeven in **afbeelding 24**.

Afbeelding 24: OS van MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC bij baseline (N = 219).

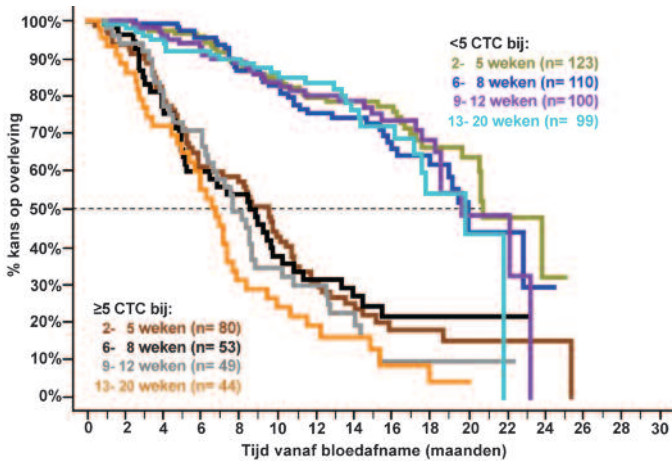


3.3.2 OS met gebruikmaking van de CTC-resultaten bij follow-up

De Kaplan-Meieranalyses van beide MPC-patiëntengroepen op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafname bij follow-up na instelling van de therapie staan weergegeven in **afbeelding 25**. Deze afbeelding toont het vermogen van CTC om bij MPC-patiënten met < 5 en ≥ 5 CTC bij 2-5 weken (n = 203), 6-8 weken (n = 163), 9-12 weken (n = 149) en 13-20 weken (n = 143) na instelling van de therapie de tijd tot overlijden te voorspellen. De OS-perioden werden berekend vanaf het tijdstip van elke bloedafname.

- De gunstige groep, weergegeven in **olijfgroen, blauw, paars** en **cyaan**, bestond uit patiënten met < 5 CTC,
- De ongunstige groep, weergegeven in **bruin, zwart**, grijs en **oranje**, bestond uit patiënten met ≥ 5 CTC.

Afbeelding 25: OS van MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen tijdens follow-up



Tabel 25 geeft een samenvatting van de resultaten van de OS-analyse met gebruikmaking van de CTC-waarden en een drempel van ≥ 5 CTC/7,5 mL op elk van de verschillende tijdstippen van bloedafname.

Tabel 25: Algehele overleving (OS) voor MPC-patiënten met < 5 of ≥ 5 CTC op verschillende tijdstippen

1	2	3	4	5	6
Bemonsteringstijd na instelling van Tx	N	≥ 5 CTC	Mediane OS in maanden (95% CI)		Log-rangorde p-waarde
			< 5 CTC	≥ 5 CTC	
Baseline	219	125 (57%)	21,7 (21,3 - NR)	11,5 (9,3 - 13,7)	$<0,0001$
2-5 weken	203	80 (39%)	20,7 (20,5 - NR)	9,5 (5,8 - 10,7)	$<0,0001$
6-8 weken	163	53 (33%)	19,9 (17,9 - NR)	8,5 (5,0 - 10,2)	$<0,0001$
9-12 weken	149	49 (33%)	19,6 (18,5 - NR)	7,6 (6,2 - 8,6)	$<0,0001$
13-20 weken	143	44 (31%)	19,8 (17,1 - NR)	6,7 (4,9 - 7,6)	$<0,0001$

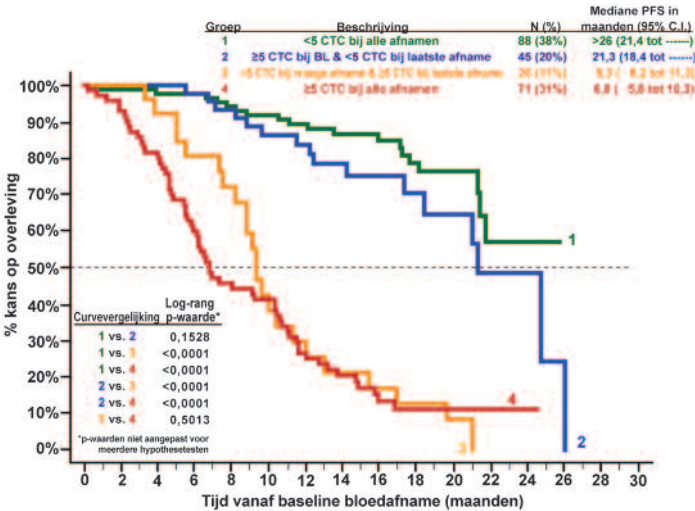
Zoals getoond in **afbeelding 25** en **tabel 25**, in kolom 4 en 5, hadden MPC-patiënten met ≥ 5 CTC op elk tijdstip een veel grotere kans op een snelle progressie dan degenen met < 5 CTC. De mediane OS-perioden voor de patiënten met < 5 CTC varieerden van 19,6 tot 21,7 maanden en waren aanzienlijk langer dan de mediane OS-perioden voor de patiënten met ≥ 5 CTC, die varieerden van 6,7 tot 11,5 maanden.

3.3.3 Afname of toename in CTC voorspelt verbeterde of verslechterde OS

Verstreken OS-perioden werden berekend vanaf de bloedafname bij baseline. Voor de Kaplan-Meieranalyse (**afbeelding 26**) werden de patiënten opgedeeld in vier groepen op grond van hun CTC-telling bij baseline, 2-5 weken, 6-8 weken, 9-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie:

- Groep 1 (**groene** curve), 88 (38%) patiënten met < 5 CTC op alle tijdstippen. Bij vijf (6%) van deze patiënten was uitsluitend bij baseline bloed afgenomen terwijl er bij zeven (8%) maar één keer bloed was afgenomen tussen de eerste en laatste bloedafname met ≥ 5 CTC;
- Groep 2 (**blauwe** curve), 45 (20%) patiënten met ≥ 5 CTC voorafgaand aan instelling van de therapie maar die waren gedaald tot < 5 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 3 (**oranje** curve), 26 (11%) patiënten met < 5 CTC bij een vroege afname maar die waren gestegen tot ≥ 5 CTC ten tijde van de laatste bloedafname;
- Groep 4 (**rode** curve), 71 (31%) patiënten met ≥ 5 CTC op alle tijdstippen van bloedafname. Bij acht (11%) van deze patiënten was uitsluitend bij baseline bloed afgenomen en bij twee (3%) slechts één keer tussen de eerste en laatste bloedafname met < 5 CTC;

Afbeelding 26: Een afname in CTC tot lager dan 5 na instelling van de therapie voorspelt een langere OS terwijl een toename in de CTC-telling tot 5 of hoger een kortere OS voorspelt bij MPC-patiënten.



Afbeelding 26 laat zien dat de patiënten met ≥ 5 CTC op elk willekeurig moment na instelling van de therapie, een veel grotere kans hadden op eerder overlijden. Patiënten met ≥ 5 CTC op alle tijdstippen (**groep 4**) hadden de kortste mediane OS, die significant verschilde van die van de mediane OS van **groep 2** en **groep 1** maar niet van **groep 3**. Patiënten met < 5 CTC op alle tijdstippen (**groep 1**) hadden de langste mediane OS, die significant verschilde van die van de mediane OS van **groep 4**, **groep 3** maar niet van **groep 2**. **Afbeelding 26** liet ook zien dat patiënten die een afname in CTC vertoonden (**groep 2**), hun overlevingskansen toenamen en een mediane OS hadden die vergelijkbaar was met die van patiënten met een gunstige CTC bij alle bloedafnamen (**groep 1**). De afbeelding laat ook zien dat ongunstige CTC-waarden na instelling van de therapie de algehele overleving aanzienlijk verlaagden (**groep 3** en **groep 4**).

3.3.4 Univariate Cox-regressieanalyse bij MPC-patiënten

Om het verband van de volgende ‘voor behandeling’ parameters met de PFS en OS te beoordelen werd univariate ‘Cox proportional hazards’ regressieanalyse toegepast: ziektestadium bij diagnose (1-4), leeftijd patiënt (≥ 70 of < 70 jaar), ECOG-status vóór instelling van een nieuwe therapielijijn (0-2), Gleason-score (2-10), hemoglobinewaarde binnen ± 30 dagen vanaf baselineafname (g/dL, continu), albuminewaarde binnen ± 30 dagen vanaf baselineafname (g/dL, continu), testosteronspiegel bij baselineafname (ng/mL, continu), LDH-spiegel bij baselineafname (IE/mL, continu), alkalische fosfatasespiegel bij baselineafname (IE/mL, continu), PSA-waarde bij baselineafname (ng/mL, continu), verdubbelingstijd PSA vóór behandeling (maanden, continu), snelheid PSA vóór behandeling (ng/mL/maand, continu), therapielijijn (1e, 2e, 3e, 4e, 5e of 6e), type therapie (met of zonder Taxotere), aanwezigheid van meetbare ziekte (ja of nee), aanwezigheid van botmetastasen (ja of nee), aanwezigheid van viscerale metastasen (ja of nee), en CTC-waarde bij baseline (≥ 5 CTC/7,5 mL of < 5 CTC/7,5 mL) en CTC-tellingen bij 2-5, 6-8, 9-12 en 13-20 weken follow-up.

Voor deze analyses is de verstreken tijd voor zowel de PFS als OS berekend vanaf het tijdstip van de bloedafname bij baseline. De resultaten van Cox-regressie (d.w.z. de hazards ratio en het bijbehorende 95%-betrouwbaarheidsinterval, chi-kwadraatwaarde en bijbehorende p-waarden) voor het vermogen van de parameters om onafhankelijk PFS en OS te voorspellen, worden in **tabel 26** weergegeven, evenals het aantal patiënten bij elke beoordeling.

Tabel 26: Univariate Cox-regressieanalyse bij MPC-patiënten

Parameter	Categorieën		Aantal MPC - patiënten	PFS-risico vanaf baseline		OS-risico vanaf baseline	
	Positief	Negatief		HR	p-waarde ²	HR	p-waarde ²
Stadium bij primaire diagnose	4 vs. 3 vs. 2 vs. 1		121	0,88	0,206	0,83	0,174
Leeftijd bij bloedafname bij baseline	≥ 70	<70	231	0,96	0,764	1,28	0,178
ECOG-status bij opname in het onderzoek	2 vs. 1 vs. 0		222	1,34	0,011	2,36	<0,001
Gleason-score	10 tot 2		208	1,01	0,919	1,02	0,717
Verdubbellingstijd PSA vóór behandeling (maanden)	Continu		230	0,97	0,542	0,97	0,664
Snelheid PSA vóór behandeling (ng/mL/maand)	Continu		230	1,00	0,200	1,00	0,544
Hemoglobine bij baseline (g/dL)	Continu		221	0,87	0,002	0,71	<0,001
Albumine bij baseline (g/dL)	Continu		214	0,99	0,748	1,02	0,557
Testosteron bij baseline (ng/mL) ¹	Continu		223	1,07	0,900	2,71	0,060
LDH bij baseline (IE/mL) ¹	Continu		219	1,001	<0,001	1,002	<0,001
Alkalische fosfatase bij baseline (IE/mL) ¹	Continu		223	1,00	0,158	1,0008	0,001
Therapielijijn	Continu (1 - 6)		231	1,23	0,003	1,28	0,003
Type therapie (Taxotere: ja/nee)	Ja	Nee	229	0,57	<0,001	0,59	0,006
Meetbare ziekte?	Ja	Nee	230	1,00	0,993	1,28	0,181
Botmetastasen?	Ja	Nee	227	1,02	0,933	2,22	0,057
Viscerale metastasen?	Ja	Nee	230	1,01	0,918	1,26	0,216
PSA bij baseline (ng/mL) ¹	Continu		231	1,00	0,746	1,00	0,907
PSA bij 2-5 weken (ng/mL) ¹	Continu		207	1,00	0,819	1,00	0,794
PSA bij 6-8 weken (ng/mL) ¹	Continu		167	1,00	0,426	1,00	0,654
PSA bij 9-12 weken (ng/mL) ¹	Continu		155	1,00	0,684	1,00	0,324
PSA bij 13-20 weken (ng/mL) ¹	Continu		143	1,00	0,639	1,00	0,205
PSA-afname bij 2-5 weken vanaf baseline (%) ¹	< 30%	≥ 30%	207	1,56	0,006	1,24	0,318
PSA-afname bij 6-8 weken vanaf baseline (%) ¹	< 30%	≥ 30%	167	2,21	<0,001	2,27	0,001
PSA-afname bij 9-12 weken vanaf baseline (%) ¹	< 30%	≥ 30%	155	2,76	<0,001	2,30	<0,001
PSA-afname bij 13-20 weken vanaf baseline (%) ¹	< 30%	≥ 30%	143	2,69	<0,001	3,19	<0,001
CTC-aantal bij baseline	≥ 5	< 5	219	1,62	0,001	3,33	<0,001
CTC-aantal bij 2-5 weken	≥ 5	< 5	203	2,34	<0,001	4,46	<0,001
CTC-aantal bij 6-8 weken	≥ 5	< 5	163	3,29	<0,001	3,66	<0,001
CTC-aantal bij 9-12 weken	≥ 5	< 5	149	3,23	<0,001	5,82	<0,001
CTC-aantal bij 13-20 weken	≥ 5	< 5	144	4,82	<0,001	7,18	<0,001

¹ Bepaald in serum dat op dezelfde datum is afgenomen als de bloedafname voor CTC² p-waarde van Waldtest of Z-statistiek

3.3.5 Multivariate Cox-regressieanalyse bij MPC-patiënten

Er zijn multivariate Cox-regressieanalyses uitgevoerd voor beoordeling van de onafhankelijke voorspellende power van CTC-telling door correctie voor de effecten van de bekende belangrijke klinische factoren die statistisch gezien significant zijn met betrekking tot de univariate analyses. CTC bleek op de meeste tijdstippen de sterkste voorspellende factor te zijn voor de PFS en OS (tabel 27).

Tabel 27: Multivariate Cox-regressieanalyse bij MPC-patiënten

Parameter	Aantal patiënten	PFS-risico vanaf baseline		OS-risico vanaf baseline	
		HR	p-waarde ²	HR	p-waarde ²
CTC bij baseline (< 5 vs. ≥ 5)	188	1,14	0,455	1,92	0,009
ECOG-status bij baseline (0 vs. 1 vs. 2)		1,00	0,982	1,46	0,032
Hemoglobine bij baseline (g/dL) ³		0,88	0,027	0,81	0,007
LDH bij baseline (IE/mL) ^{1, 3}		1,0007	0,018	1,002	<0,001
Alkalische fosfatase bij baseline (IE/mL) ^{1, 3}		—	—	1,00	0,410
Therapielijn (1e tot en met 6e)		1,14	0,145	1,07	0,547
Type therapie (Taxotere: ja/nee)		0,63	0,009	0,70	0,139
CTC bij 2-5 weken (< 5 vs. ≥5)	173	1,48	0,041	2,91	<0,001
PSA-afname bij 2-5 weken vanaf baseline (≥ 30% vs. < 30%) ¹		1,40	0,077	1,13	0,637
ECOG-status bij baseline (0 vs. 1 vs. 2)		0,97	0,836	1,46	0,054
Hemoglobine bij baseline (g/dL) ³		0,93	0,246	0,89	0,141
LDH bij baseline (IE/mL) ^{1, 3}		1,002	0,002	1,003	<0,001
Alkalische fosfatase bij baseline (IE/mL) ^{1, 3}		—	—	1,00	0,622
Therapielijn (1e tot en met 6e)		1,11	0,274	1,11	0,399
Type therapie (Taxotere: ja/nee)		0,75	0,133	0,80	0,397
CTC bij 6-8 weken (< 5 vs. ≥5)	139	2,14	<0,001	2,13	0,009
PSA-afname bij 6-8 weken vanaf baseline (≥ 30% vs. < 30%) ¹		1,88	0,002	2,38	0,007
ECOG-status bij baseline (0 vs. 1 vs. 2)		1,04	0,810	1,52	0,088
Hemoglobine bij baseline (g/dL) ³		0,97	0,695	0,79	0,013
LDH bij baseline (IE/mL) ^{1, 3}		1,002	0,003	1,004	<0,001
Alkalische fosfatase (IE/mL) ^{1, 3}		—	—	1,00	0,780
Therapielijn (1e tot en met 6e)		1,37	0,001	1,35	0,035
Type therapie (Taxotere: ja/nee)		0,80	0,278	1,45	0,276
CTC bij 9-12 weken (< 5 vs. ≥5)	125	1,74	0,015	3,94	<0,001
PSA-afname bij 9-12 weken vanaf baseline (≥ 30% vs. < 30%) ¹		2,23	<0,001	1,46	0,221
ECOG-status bij baseline (0 vs. 1 vs. 2)		1,21	0,307	1,89	0,004
Hemoglobine bij baseline (g/dL) ³		0,93	0,322	0,97	0,758
LDH bij baseline (IE/mL) ^{1, 3}		1,00	0,190	1,003	<0,001
Alkalische fosfatase bij baseline (IE/mL) ^{1, 3}		—	—	1,00	0,989
Therapielijn (1e tot en met 6e)		1,25	0,052	1,11	0,499
Type therapie (Taxotere: ja/nee)		0,97	0,903	1,26	0,486
CTC bij 13-20 weken (< 5 vs. ≥5)	123	2,95	<0,001	3,75	0,001
PSA-afname bij 13-20 weken vanaf baseline (≥ 30% vs. < 30%) ¹		1,97	0,002	1,52	0,275
ECOG-status bij baseline (0 vs. 1 vs. 2)		0,98	0,919	1,98	0,002
Hemoglobine bij baseline (g/dL) ³		1,03	0,723	0,87	0,232
LDH bij baseline (IE/mL) ^{1, 3}		1,00	0,380	1,003	<0,001
Alkalische fosfatase bij baseline (IE/mL) ^{1, 3}		—	—	1,00	0,078
Therapielijn (1e tot en met 6e)		1,25	0,050	1,06	0,751
Type therapie (Taxotere: ja/nee)		1,04	0,882	0,90	0,770

¹ Bepaald in serum dat op dezelfde datum is afgenomen als de bloedafname voor CTC² p-waarde van Waldtest of Z-statistiek³ Beoordeeld als een continue parameter

3.4 Toepassing van CTC voor monitoring van de klinisch status van patiënten met gemetastaseerde prostaatkanker

3.4.1 Relatie tussen overleving, CTC's en ziektebeoordeling aan de hand van PSA

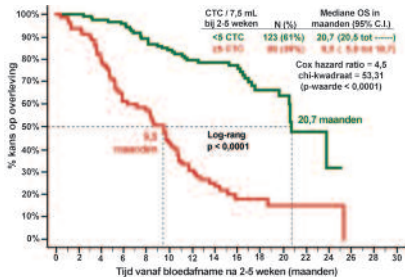
Momenteel is een verlaging van het PSA een van de primaire methoden om de respons op therapie bij MPC-patiënten te bepalen. Om de relatie van de klinische status vast te stellen zoals bepaald door een PSA ten opzichte van CTC, werd een afname van $\geq 30\%$ of $\geq 50\%$ PSA en CTC gemeten bij 2-5 weken, 6-8 weken, 9-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie en vergeleken met de algehele overleving.

Voor de Kaplan-Meieranalyse werden de verstrekte OS-perioden berekend vanaf het moment van de bloedafname. Patiënten werden verdeeld in gunstige groepen op grond van een CTC van < 5 ten tijde van de beoordeling en een afname van $\geq 30\%$ van het PSA vanaf baseline tot het moment van de beoordeling. Patiënten werden verdeeld in ongunstige groepen op grond van een CTC van ≥ 5 en een afname van $< 30\%$ van het PSA vanaf baseline tot het moment van de beoordeling.

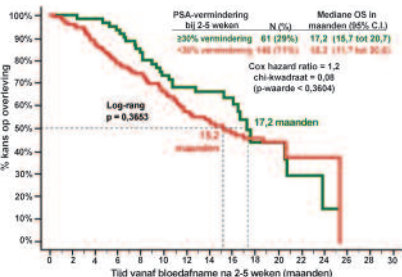
Afbeelding 27 toont de resultaten van de analyse 2-5 weken na instelling van de therapie, afbeelding 28 de analyse 6-8 weken na instelling van de therapie, afbeelding 29 de analyse 9-12 weken na instelling van de therapie en afbeelding 30 de analyse 13-20 weken na instelling van de therapie.

Afbeelding 27: OS van MPC-patiënten 2-5 weken na instelling van de therapie.

A. CTC bij 2-5 weken

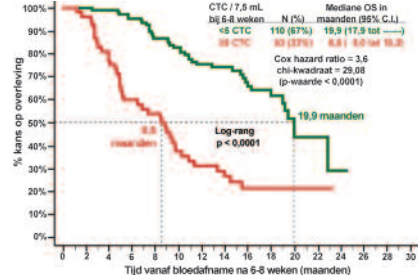


B. $\geq$ PSA-daling van 30% na 2-5 weken

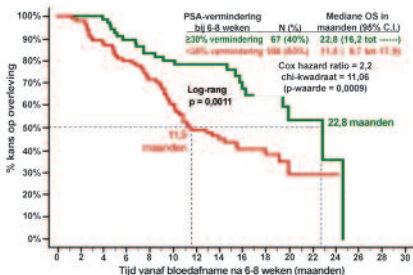


Afbeelding 28: OS van MPC-patiënten 6-8 weken na instelling van de therapie.

A. CTC bij 6-8 weken

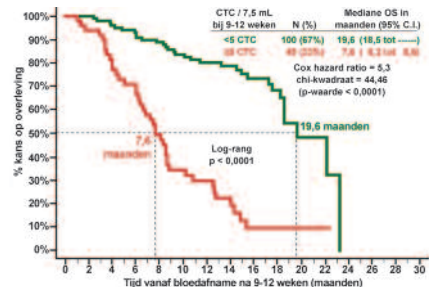


B. $\geq$ PSA-daling van 30% na 6-8 weken

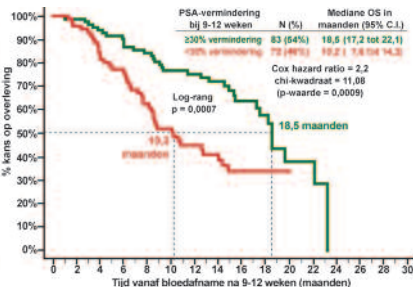


Afbeelding 29: OS van MPC-patiënten 9-12 weken na instelling van de therapie

A. CTC bij 9-12 weken

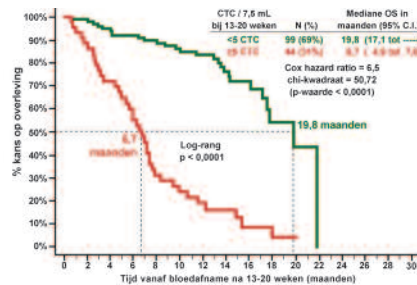


B. $\geq$ PSA-daling van 30% na 9-12 weken

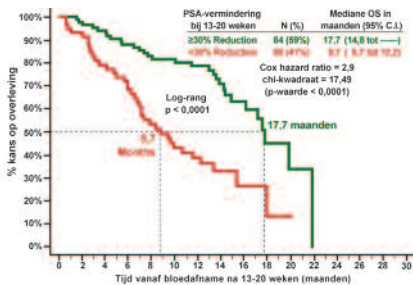


Afbeelding 30: OS van MPC-patiënten 13-20 weken na instelling van de therapie

A. CTC bij 13-20 weken



B. ≥PSA-daling van 30% na 13-20 weken



Tabel 28 toont de vergelijking van de mediane algehele overleving op verschillende tijdstippen na therapie met CTC, een PSA-afname van 30% en een PSA-afname van 50%.

Tabel 28: Vergelijking van de mediane OS tussen groepen met een gunstige en ongunstige CTC en PSA-afname.

Tijd stip	CTC/7,5 mL						PSA-afname van 30% vanaf baseline						PSA-afname van 50% vanaf baseline					
	N	≥ 5 (%)	Mediane OS		Log-rang p-waarde	HR	N	< 30 (%)	Mediane OS		Log-rang p-waarde	HR	N	< 50 (%)	Mediane OS		Log-rang p-waarde	HR
			< 5	≥ 5					≥ 30%	< 30%					≥ 50%	< 50%		
2-5 weken	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 weken	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 weken	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 weken	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

De gegevens in **afbeelding 27** tot en met **afbeelding 30** en in **tabel 28** laten een sterk significant verschil zien in de algehele overleving tussen patiënten met een ongunstige CTC en een gunstige CTC op alle geteste tijdstippen, terwijl de PSA-beoordelingen niet significant waren tot 6-8 weken na instelling van de therapie. Hoewel de verschillen in de mediane OS tussen de groepen met de gunstige (PSA-daling $\geq 30\%$ of $\geq 50\%$ vanaf baseline) en ongunstige (PSA-daling $< 30\%$ of $< 50\%$ vanaf baseline) PSA-daling aanzienlijk waren, bleek het onderscheid tussen de gunstige (< 5 CTC) en ongunstige (≥ 5 CTC) CTC-groepen groter te zijn en was het op alle tijdstippen na instelling van de therapie significant.

3.4.2 Concordanties tussen CTC en PSA-veranderingen bij MPC-patiënten

Momenteel wordt doorgaans een PSA-daling van $\geq 30\%$ of van $\geq 50\%$ gebruikt om de ziekteprogressie bij patiënten met gemetastaseerde prostaatkanker te beoordelen. Om de relatie tussen CTC en veranderingen in PSA vast te stellen, zijn overeenkomende en strijdige waarnemingen tussen CTC en PSA-veranderingen voor elk tijdstip na instelling van de therapie twee aan twee getabelliseerd. Hoewel vergelijkingen van CTC en PSA-veranderingen voor beide groottes zijn berekend, zijn uitsluitend de gegevens van de CTC vs. een PSA-verandering van $\geq 30\%$ gemeld. Dit besluit werd gebaseerd op een recente publicatie (*J Nat Ca Inst* 98 (8):p.516-521, 2006), die aantoonde dat een PSA-afname van 30% na 3 maanden een sterker verband toonde met een afname in het overlevingsrisico dan een PSA-afname van 50%. Bovendien toonde een vergelijking van de resultaten per patiënt en per observatie van de PSA-afname van 30% en 50% vs. CTC-analysen geen substantiële verschillen in het positieve en negatieve % overeenstemming en de algehele overeenstemming op een van de geobserveerde tijdstippen.

In totaal zijn er serummonsters van 197, 159, 146 en 138 patiënten geanalyseerd door het centrale laboratorium en waren er beoordeelbare CTC-resultaten respectievelijk 2-5 weken, 6-8 weken, 9-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie. Om de respons van een patiënt op de therapie te bepalen, werd voor elk tijdstip na instelling van de therapie de percentuele verandering in PSA vanaf de baselinewaarde berekend. Voor PSA-veranderingen op elk tijdstip werd de gunstige groep gedefinieerd als patiënten met een PSA-afname $\geq 30\%$ en de ongunstige groep als patiënten met een PSA-afname $< 30\%$. Voor CTC op elk tijdstip werd de gunstige groep gedefinieerd als patiënten met < 5 CTC per 7,5 mL bloed en de ongunstige groep als patiënten met ≥ 5 CTC.

Omdat de CTC- vs. de PSA-resultaten van de vergelijkingen per patiënt tussen CTC en een PSA-afname van $\geq 30\%$ bij 2-5 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie respectievelijk het meest significante verschil en overeenstemming vertoonden, worden deze gegevens respectievelijk in **tabel 29** en **tabel 30** weergegeven.

Tabel 29: Vergelijking per patiënt van CTC en PSA-afname van 30% bij 2-5 weken bij MPC

% daling van PSA vanaf baseline bij 2-5 weken na instelling van de therapie	CTC's bij 2-5 weken na instelling van de therapie		Totaal
	< 5 CTC's/7,5 mL	≥ 5 CTC's/7,5 mL	
≥ 30% afname van PSA	50	11	61
< 30% afname van PSA	69	67	136
Totaal	119	78	197

Meting	Geschat	Ondergrens 95% CI	Bovengrens 95% CI
Positief % overeenstemming	49%	41%	58%
Negatief % overeenstemming	82%	70%	91%
Positieve voorspelde waarde	86%	76%	93%
Negatieve voorspelde waarde	42%	33%	51%
Algehele overeenstemming	59%	52%	66%
Odds ratio	4,4	2,1	9,2

Tabel 30: Vergelijking per patiënt van CTC en PSA-afname van 30% bij 13-20 weken bij MPC

% daling van PSA vanaf baseline bij 13-20 weken na instelling van de therapie	CTC bij 13-20 weken na instelling van de therapie		Totaal
	< 5 CTC	≥ 5 CTC	
≥ 30% afname van PSA	72	9	81
< 30% afname van PSA	23	34	57
Totaal	95	43	138

Meting	Geschat	Ondergrens 95% CI	Bovengrens 95% CI
Positief % overeenstemming	60%	46%	72%
Negatief % overeenstemming	89%	80%	95%
Positieve voorspelde waarde	79%	64%	90%
Negatieve voorspelde waarde	76%	66%	84%
Algehele overeenstemming	77%	69%	84%
Odds ratio	11,8	4,9	28,3

De gecombineerde resultaten van een vergelijking per observatie van CTC en PSA-veranderingen met gebruikmaking van een afnamedrempel van ≥ 30% bij 2-5 weken, 6-8 weken, 9-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie staan weergegeven in **tabel 31**.

Tabel 31: Vergelijking per observatie van CTC en PSA-afname van 30% voor MPC.

% daling van PSA vanaf baseline na instelling van de therapie	CTC na instelling van de therapie		Totaal
	< 5 CTC	≥ 5 CTC	
≥ 30% afname van PSA	243	41	284
< 30% afname van PSA	175	181	356
Totaal	418	222	640

Meting	Geschat	Ondergrens 95% CI	Bovengrens 95% CI
Positief % overeenstemming	51%	46%	56%
Negatief % overeenstemming	86%	81%	89%
Positieve voorspelde waarde	82%	76%	86%
Negatieve voorspelde waarde	58%	53%	63%
Algehele overeenstemming	66%	62%	70%
Odds ratio	6,1	4,1	9,1

De algehele overeenstemming tussen CTC en PSA-veranderingen op de verschillende tijdstippen na instelling van de therapie varieerde van 59% tot 77% bij vergelijking met een PSA-afname van ≥ 30% en van 52% tot 75% bij vergelijking met een PSA-afname ≥ 50%, waaruit blijkt dat er een verschil was tussen CTC en PSA-veranderingen bij ~25% tot 40% van de patiënten.

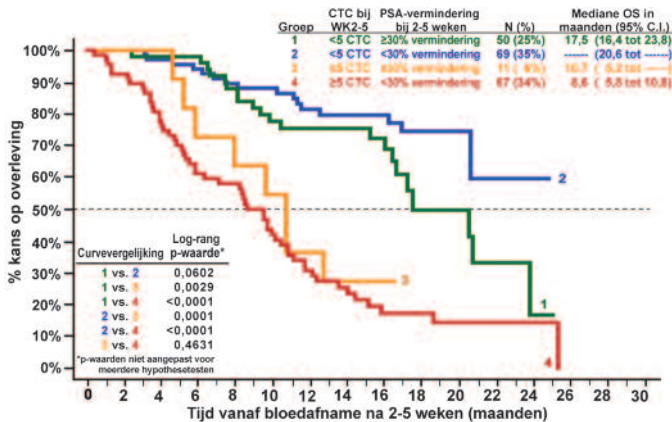
3.4.3 CTC-waarden en PSA-verlaging gecombineerd om bij MPC-patiënten de OS te voorspellen

Om vast te stellen welke van de strijdige resultaten beter de prognose van de patiënt weergaf, zijn CTC-beoordelingen en veranderingen in PSA bij 2-5 weken, 6-8 weken, 9-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie vergeleken met de algehele overleving. Verstreken OS-perioden werden berekend vanaf de te beoordelen bloedafname. Voor de Kaplan-Meieranalyse [afbeelding 31 (paneel A, B, C en D)] werden de patiënten opgedeeld in vier groepen op grond van hun CTC-telling en PSA-afname bij 2-5 weken, 6-8 weken, 9-12 weken en 13-20 weken na instelling van de therapie, respectievelijk:

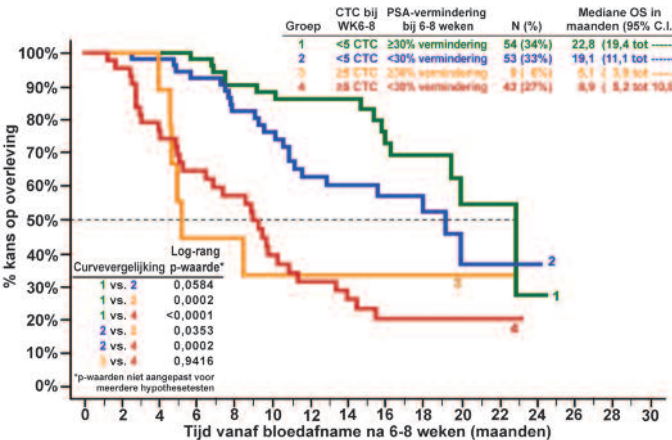
- Groep 1 (groene curve), patiënten met < 5 CTC ten tijde van de beoordeling en een PSA-afname van $\geq 30\%$ vanaf baseline tot het moment van de beoordeling;
- Groep 2 (blauwe curve), patiënten met < 5 CTC ten tijde van de beoordeling en een PSA-afname van < 30% vanaf baseline tot het moment van de beoordeling;
- Groep 3 (oranje curve), patiënten met ≥ 5 CTC ten tijde van de beoordeling en een PSA-afname van $\geq 30\%$ vanaf baseline tot het moment van de beoordeling;
- Groep 4 (rode curve), patiënten met ≥ 5 CTC ten tijde van de beoordeling en een PSA-vermindering van < 30% vanaf de baseline tot het moment van de beoordeling.

Afbeelding 31: CTC-waarden en PSA-veranderingen gecombineerd om de OS 2-5 weken (paneel A), 6-8 weken (paneel B), 9-12 weken (paneel C) en 13-20 weken (paneel D) na instelling van de therapie te voorspellen.

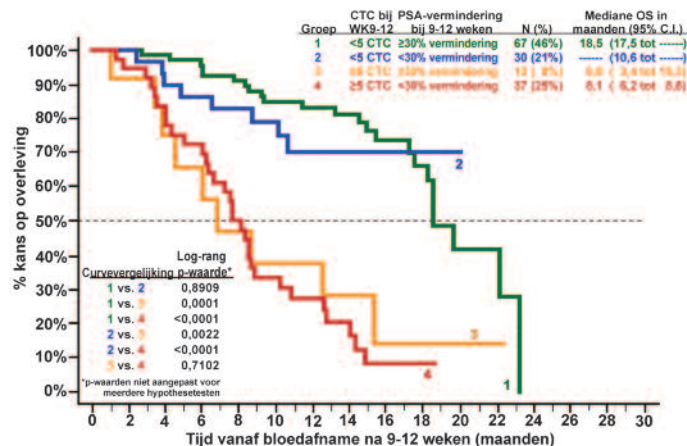
A. 2-5 weken



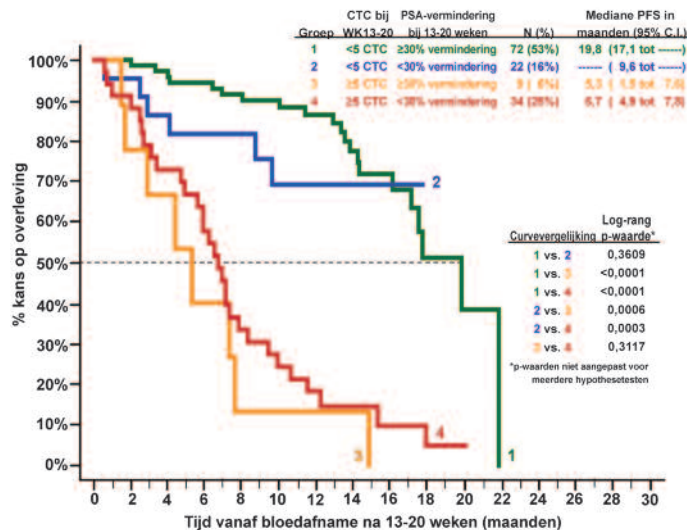
B. 6-8 weken



C. 9-12 weken



D. 13-20 weken



Afbeelding 31 laat zien dat de patiënten met ≥ 5 CTC op elk willekeurig tijdstip na instelling van de therapie, een veel grotere kans hadden op eerder overlijden, ongeacht de veranderingen in de PSA-waarden vanaf baseline. Patiënten met ≥ 5 CTC op alle tijdstippen (**groep 3** en **groep 4**) hadden de kortste mediane algehele overleving, die niet significant van elkaar verschilde. De mediane OS van deze twee groepen was echter significant verschillend ten opzichte van de mediane OS van de patiënten met < 5 CTC op alle tijdstippen (**groep 1** en **groep 2**). Deze twee groepen (**groep 1** en **groep 2**) hadden de langste mediane algehele overleving, die niet significant van elkaar verschilde. De belangrijke bevinding die in **afbeelding 31** is weergegeven, is dat hoewel een afname van het PSA op enkele tijdstippen na instelling van de therapie significantie kan bereiken voor het voorspellen van de overleving, gunstige CTC's op elk tijdstip nauwkeuriger waren dan de PSA-beoordeling. De praktische implicatie is het gebruik van de CTC-analyse voor de beoordeling van de kans op overleving van MPC-patiënten. In gevallen waar de CTC en PSA-verandering strijdig waren, leverde CTC de nauwkeurigste beoordeling van de prognose op.

HERZIENINGSGESCHIEDENIS

Herzieningsdatum	Componentcode	Beschrijving van technische wijzigingen
2017-07-06	e631600005_NL	• LBL-0018 toegevoegd onder onderdeelnummer • Staartcode voortgezet naar e631600005_NL • Bedrijfsnaam in 'JANSSEN DIAGNOSTICS, onderdeel van JANSSEN PHARMACEUTICA NV' bijgewerkt naar 'Menarini Silicon Biosystems Inc.' • Bijgewerkt naar bedrijfsgegevens Menarini Silicon Biosystems, waaronder: – Logo Menarini Silicon Biosystems – Adres EC/REP – Adres fabrikant • Herzieningsdatum bijgewerkt
2017-04-01	e631600004_NL	• De uitgangscade is doorgezet naar e631600004_NL • Bijgewerkte informatie over octrooien • Herzieningsdatum aangepast
2016-04-20	e631600003_NL	• De uitgangscade is doorgezet naar e631600003_NL • Alle verwijzingen naar het geregistreerde handelsmerk 'MAGNEST' zijn verwijderd • Het onderdeel 'BEPERKINGEN' is bijgewerkt: – Er is een waarschuwing toegevoegd in verband met een verkooprestrictie vanwege de Amerikaanse (VS) federale wetgeving • Het onderdeel 'LEGENDA' is bijgewerkt: – Andere talen dan Engels zijn verwijderd • Janssen Diagnostics BVBA is gewijzigd in 'JANSSEN DIAGNOSTICS een
2015-05-22	e631600002_NL	• LBL-0018 toegevoegd onder onderdeelnummer • De uitgangscade is gewijzigd naar e631600002_NL • De paragraaf WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMATREGELEN is bijgewerkt: – Stap 7 m.b.t. natriumazide is bijgewerkt van 'Waarschuwing' naar 'Let op' – De risico- en veiligheidszinnen R22 en S28 zijn verwijderd • De paragraaf 'GEVAREN en VOORZORGSMATREGELEN' is toegevoegd met bijbehorende opmerkingen • De opmerking met betrekking tot symptomen ten gevolge van overmatige blootstelling aan ProClin® 300 is verwijderd • De paragraaf 'LEGENDA': – Het pictogram Schadelijke stof is vervangen door het pictogram Waarschuwing – Het pictogram Biologische risico's is bijgewerkt • Het adres is bijgewerkt
2013-08-29	e631600001_NL	Technisch gelijkwaardig aan e631500023_NL met de volgende wijzigingen: • Een nieuw onderdeelnummer toegewezen • Aangepast met de zakelijke attributen van Janssen, waaronder: – Janssen logo – Productieadres – Adres EC/REP – Telefoonnummers – Website • Alle instanties van CELLSPOTTER® Analyzer verwijderd • Alle instanties van CELLSEARCH® Conical Tube aangepast naar CELLSEARCH® Conical Centrifuge Tubes (15 mL) • Alle instanties van CELLSEARCH® Kit aangepast naar CELLSEARCH® CTC Kit • In de paragraaf INTERPRETATIE VAN RESULTATEN: – Celcarryover-informatie aangepast naar '5000 of meer' • In de paragraaf Janssen Technical & Customer Support: – Alle instanties van Veridex, LLC aangepast naar Janssen Diagnostics, LLC – Verklaring omtrent Amerikaanse octrooien aangepast • In de paragraaf LEGENDA: – Symbool voor productiedatum en tekst "Productiedatum" toegevoegd • Herzieningsdatum aangepast



Menarini Silicon Biosystems Inc.
10355 Science Center Drive, Suite 210
San Diego, CA 92121
VS
documents.cellsearchctc.com
Tel: 1-877-837-4339
00 8000 8374339 (EU)

CELLSEARCH®, CELLTRACKS®, CELLTRACKS ANALYZER II®
en AUTOPREP® zijn gedeponeerde handelsmerken van
Menarini Silicon Biosystems Inc.
Deze technologie, inclusief de producten en/of bijbehorende
componenten, en de procedures en instrumentsystemen
beschreven in dit document genieten bescherming
krachtens octrooien in de Verenigde Staten en
overeenkomstige internationale octrooien en
octrooiaanvragen, waaronder een of meer van de volgende:
Amerikaanse octrooinummers 6,136,182; 6,551,843; 6,623,982;
6,790,366; 7,011,794 en 7,332,288.

LEGENDA

De volgende symbolen kunnen zijn gebruikt in deze gebruiksaanwijzing of op desbetreffende etiketten.



Niet meer gebruiken na YYYY-MM-DD
of YYYY-MM



Lotnummer



Serienummer



Let op, raadpleeg de begeleidende
documenten



Fabricagedatum



Fabrikant



Bevat voldoende voor $< n >$ testen



Waarschuwing



Catalogusnummer



Gevolmachtigd vertegenwoordiger in de
Europese Gemeenschap



Beperking met betrekking tot de
temperatuur



Biologische risico's



Raadpleeg de gebruiksinstructies



Medisch product voor *in-vitro* diagnostiek

Menarini Silicon Biosystems SpA
Via Giuseppe Di Vittorio 21B/3
40013 Castel Maggiore (Bologna)
Italië



Menarini Silicon Biosystems Inc.
10355 Science Center Drive, Suite 210
San Diego, CA 92121
VS
documents.cellsearchctc.com
Tel: 1-877-837-4339
00 8000 8374339 (EU)



MENARINI
silicon biosystems

