



DAHANCA 23
CIRRO-IP010109

Bestemmelse af tumor hypoksi med ^{18}F -FAZA
Positron Emissions Tomografi i tumorer hos
patienter med operabel hoved-hals karcinom

Denne protokol og de til den hørende dokumenter kan findes på DAHANCA hjemmesiden:
www.dahanca.dk

Godkendt af Lægemiddelstyrelsen (journal nr. 2512-109796 og 2512-113075)
Godkendt af Den Videnskabetiske Komité for Region Midt (journal nr.M-20090082)
Godkendt af datatilsynet (journal nr. 2009-41-3581)
Anmeldt til www.clinicaltrials.gov (afventer ID-nr.)

DAHANCA sekretariatet
Afdeling for Eksperimentel Klinisk Onkologi
Århus Universitetshospital
Nørrebrogade 44
Tel: 8949 2619
Fax: 8619 7109

Version 2.1
12. november 2009

PROTOKOL ORGANISATION:

Investigator:

Klinisk assistent Lise Saksø Mortensen
Afdeling for Eksperimentel Klinisk Onkologi,
Århus Universitetshospital

Sponsor:

Professor Jens Overgaard
Afdeling for Eksperimentel Klinisk Onkologi,
Århus Universitetshospital

Protokol koordineret af:

Overlæge Marianne Nordsmark
Afdeling for Eksperimentel Klinisk Onkologi,
Århus Universitetshospital

Overlæge Jørn Theil

PET Centret,
Århus Universitetshospital

DELTAGENDE AFDELINGER

Protokolansvarlig:

Overlæge Marie Overgaard
Onkologisk Afdeling,
Århus Universitetshospital

Overlæge Jørn Theil

PET-centret,
Århus Universitetshospital

Øre- næse- og halsafdeling,
Århus Universitetshospital

Protokolansvarlig:

Overlæge Jørgen Johansen
Onkologisk Afdeling,
Odense Universitetshospital

Nuklearmedicinsk afdeling,
Odense Universitetshospital

Øre-næse-hals kirurgisk afdeling,
Odense Universitetshospital

Protokolansvarlig:

Overlæge Jens Bentzen

Onkologisk afdeling,
Amtssygehuset Herlev

Nuklearmedicinsk Afdeling,
Amtssygehuset Herlev

Onkologisk Afdeling,
Amtssygehuset Herlev

Protokolansvarlig:
Overlæge Lisbeth J. Andersen
Onkologisk Afdeling,
Ålborg Universitetshospital

Nuklearmedicinsk Afdeling,
Ålborg Universitetshospital

1. Undersøgelsens mål

Undersøgelsens mål er at evaluere tumor hypoksi med ^{18}F -FAZA PET skanning hos patienter med operabelt planocellulært hoved-hals karcinom.

2. Baggrund

De fleste solide tumorer indeholder områder af hypoksiske celler, der er relativt resistente for strålebehandling¹. Studier af patienter med karcinom i hoved-hals og cervix uteri har vist, at hypoksi er associeret med dårlig lokal kontrol og overlevelse^{2,3}. Modifikation af hypoksi er forbundet med øget lokal tumorkontrol og overlevelse i hoved hals cancer⁴.

I takt med nye teknologiske fremskridt åbnes muligheden for mere individualiseret strålebehandling. Et eksempel er intensitetsmoduleret stråleterapi (IMRT), hvor man med stor præcision kan øge stråledosis til stråleresistente hypoksiske områder af tumor uden at øge toksicitet til normalvævet. Ved netop at integrere biologisk information om graden af hypoksi i strålebehandlingsplanen kan man således ramme stråleresistente områder. Denne teknik er i litteraturen beskrevet som ”dose painting”⁵. Afgørende for effekten af individualiseret behandling er korrekt identifikation af hypoksi i tumor.

Forskellige metoder har været benyttet med henblik på at måle hypoksi: Eppendorf elektroder, som måler fysisk ilt; eksogene hypoksimarkører, der måles immunhistokemisk (eks. pimonidazol) eller via billed-modaliteter (eks. ^{18}F -FMISO PET skanning) og endogene hypoksimarkører (eks. HIF-1 α , CA9). Der er tiltagende interesse for netop de eksogene hypoksimarkører, som kan detekteres non-invasivt med PET skanning. Som ved klassisk diagnostisk ^{18}F FDG-PET skanning injicerer man et radioaktivt sporstof. De hypoksiske sporstoffer udmærker sig ved at akkumuleres i hypoksiske væv. Fordelene ved metoden er, at den ikke er invasiv, fordelingen af tumor-hypoksi kan studeres i tre dimensioner og skanningen vil kunne gentages, hvorved ændringer af hypoksi i såvel ubehandlede som behandlede tumorer kan undersøges.

Den mest anvendte markør hidtil er ^{18}F -fluoromisonidazole (^{18}F -FMISO)⁶. Der foreligger aktuelt > 30 publicerede kliniske ^{18}F -FMISO studier, hvoraf halvdelen er udført i hoved-hals karcinomer⁷. Et nyere nitroimidazolderivat er ^{18}F -fluoroazomycin arabinoside (^{18}F -FAZA)⁸, der er mindre lipofilt end ^{18}F -FMISO, udvaskes hurtigere og derfor forventes at kunne levere et mere præcist mål for hypoksi. Foreløbige studier har vist at ^{18}F -FAZA er en valid og praktisk anvendelig hypoksimarkør⁹. Et præklinisk sammenlignende PET studie af ^{18}F -FAZA og ^{18}F -FMISO, konkluderede at ^{18}F -FAZA har bedre biokinetik¹⁰, hvilket stemmer overens med resultater i patienter med hoved-hals karcinomer¹¹.

Hvis information fra en ^{18}F -FAZA PET skanning skal kunne benyttes med henblik på dose painting, er det afgørende, at PET signalet leverer et pålideligt resultatet ved bestemmelsen af såvel hypoksiske som ikke-hypoksiske områder af tumor.

Prækliniske erfaringer med immunohistokemisk farvning af et nitroimidazolderivat (pimonidazole) og autoradiografisk fremstilling af radioaktivt ^{18}F -FAZA på konsekutive snit, har vis god overensstemmelse imellem disse to hypoksimarkører⁹. Opløseligheden i en mikro-PET til dyrekperimentelle studier er højere end de ca. 4-6 mm i en klinisk PET skanner. Således vil en enkelt klinisk PET voksels ^{18}F -FAZA-signal formentligt repræsenterer områder med varierende grader af hypoksi, normoksi og anoksi på mikroskopisk niveau¹².

I dette studie foretages en direkte sammenligning af ^{18}F -FAZA PET signalet og pimonidazols reduktionsprodukter på biopsi- eller operationsmateriale fra den samme tumor. Formålet er at korrelere pimonidazol farvning og ^{18}F -FAZA autoradiografi med de kliniske ^{18}F -FAZA PET skanninger med henblik på, at visualisere de kliniske PET skanningers reelle opløsningsevne af tumor hypoksi. Sådanne studier kan med fordel udføres i patienter der behandles med kirurgi, idet det biologiske materiale er let tilgængeligt via operationspræparatet.

3. Undersøgelsens formål

3.1 Hypotese

^{18}F -FAZA PET skanning afspejler hypoksi heterogenitet hos patienter med operabelt planocellulært hoved-hals karcinom.

3.2 Formål

Formålet med dette studie er at evaluere muligheden for med ^{18}F -FAZA PET skanning at karakterisere tumor hypoksi heterogenitet hos patienter med operabelt planocellulært hoved-hals karcinom. Dette gøres ved at sammenligne ^{18}F -FAZA PET skanning med ^{18}F -FAZA og pimonidazol i væv.

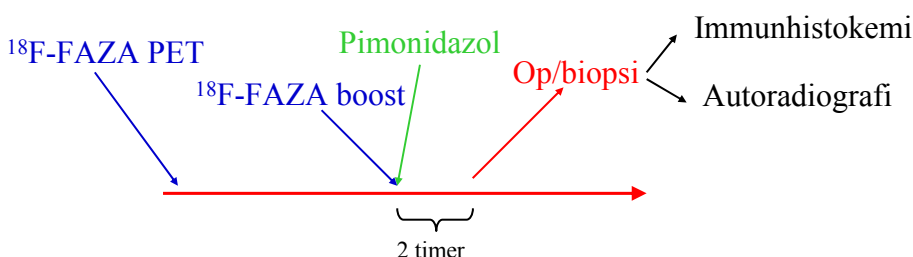
4. Undersøgelsens design

4.1 Design

Studiet er åbent, prospektivt og ikke randomiseret.

Studiepopulationen udgør patienter med primært operabel HNSCC i klinisk stadium T1-T2, N0-N1, M0.

4.2 Figur over undersøgelsens design



5. Kriterier for patientudvælgelse

- Histologisk eller cytologisk verificeret planocellulært karcinom i cavum oris, larynx, oropharynx eller hypopharynx .
- Klinisk stadium T1-2 N0-N1 M0.
- Visiteret til primær operation.
- Alder over 18 år.
- Ingen tilstedeværende psykologiske, familiære, sociologiske eller geografiske forhold, som potentielt kunne hindre overholdelse af plan for undersøgelsesprotokollen og opfølgning. Sådanne forhold skal drøftes med patienten før deltagelse i undersøgelsen.
- Ingen samtidig eller tidligere malign lidelse, som kan påvirke behandlingen, evalueringen og udfaldet af den nuværende sygdom og behandling.
- Mundtligt og skriftligt informeret samtykke i henhold til lokal og national lovgivning.
- Kvinder må ikke være gravide eller ammende.
- Normal kreatinin.

Egnethed til indgang i studiet vurderes ved multidisciplinær konference.

6. Udførelse af ^{18}F -FAZA PET og pimonidazol undersøgelser

6.1 ^{18}F -FAZA PET

Der foretages én præoperativ ^{18}F -FAZA PET skanning. Skanningen vil blive foretaget på en kombineret PET/CT skanner, idet CT billederne giver anatomisk information. Hvor det er muligt vil patienten skannes med CT kontraststof.

Se venligst appendiks.

6.2 Operation/biopsi

Det tilstræbes, at tidsrummet imellem den præoperative ^{18}F -FAZA PET skanning og patientens operation er kortest mulig. Hos patienter, hvor dette tidsinterval forudses at være længere end ca. 1 uge, og hvor det i øvrigt er muligt, vil patienten få foretaget en tumor biopsi.

Før operation samt biopsi injiceres pimonidazol og/eller ^{18}F -FAZA boost. Se venligst appendiks.

7. Endepunkt

Det primære endepunkt er at sammenligne pimonidazol immunofluorescence mikroskopi og ^{18}F -FAZA autoradiografi. Dette sammenlignes efterfølgende med ^{18}F -FAZA PET skanningerne.

8. Evaluering

7.1 Sammenligning af ^{18}F -FAZA og pimonidazol

I biopsien/operationspræparatet vil distribution af ^{18}F -FAZA og pimonidazol blive sammenlignet pixel-by-pixel. Se venligst appendiks.

7.2 ^{18}F -FAZA skanning

Områder af tumor og lymfeknuder med hypoksi (vurderet ved forhøjet T/M) bestemmes. Dette sammenlignes med distributionen af ^{18}F -FAZA og Pimonidazol i biopsi/operationspræparat. Se venligst appendiks.

9. Statistik

20 patienter vil deltage i projektet. Dette antal forventes at være passende, baseret på den forventede heterogenitet i populationen, samt baseret på tidligere studier af lignende karakter. Da hver deltager i projektet fungerer som sin egen kontrol, er det ikke relevant at anføre styrkeberegninger. Korrelationsanalyse udføres med non-parametriske Spearmans test af ^{18}F -FAZA autoradiogram, pimonidazol og ^{18}F -FAZA PET skanning.

10. Bivirkninger, risici og ulemper

Anlæggelse af venflon til injektion af ^{18}F -FAZA kan være forbundet med lette smerter. Der er beskeden risiko for infektion svarende til indstiksstedet. Der anvendes almindelig steril teknik.

Patienter, for hvem en tumorbiopsi bliver aktuelt, kan opleve lettere ubehag i forbindelse med anlæggelse af lokalanæstesi. Der vil være beskeden risiko for infektion og efterfølgende blødning svarende til biopsistedet. Der vil blive anvendt almindelig steril teknik.

CT kontraststoffet har ingen eller meget få bivirkninger. En let forbigående varmekøbsfølelse eller metalsmag ved indsprøjtningen kan forekomme. Overfølsomhedsreaktioner såsom forbigående udslæt og astma-lignende symptomer forekommer hos få procent.

Pimonidazol samt nært beslægtede stoffer misonidazol og nimorazol er afprøvet som strålesensitizerer givet dagligt i farmakologiske doser. Et fase III studie viste let forøgede reversible CNS symptomer i pimonidazol armen. I et fase I studie var polyneuropati dosisbegrænsende for misonidazol og i væsentlig mindre grad for nimorazol, der i dag indgår som led i standardbehandling af hoved-hals cancer i Danmark⁴. Da ^{18}F -FAZA og pimonidazol alene benyttes i sporstofsdoser i dette studie forventes ingen bivirkninger. Der forventes ikke at være nogen interaktion mellem pimonidazol og ^{18}F -FAZA, idet der ikke opnås mætning af enzymerne.

Strålebelastningen. Samlet vil patienten maksimalt blive udsat for ca. 10 mSv i denne protokol. Til sammenligning kan oplyses, at den årlige baggrundsstråling i Danmark ligger på ca. 3 mSv. Den bestråling, en ^{18}F -FAZA PET/CT skanning indebærer, vil give en risiko for samlet stokastisk skade på 10^{-4} . Imidlertid er risikoen for cancer i studiepopulationen á priori langt større. Se venligst appendiks.

11. Ethiske overvejelser og økonomi

Undersøgelsen gennemføres i overensstemmelse med principperne i Helsinki-deklaration II med tillæg, samt retningslinjerne for God Klinisk Praksis.

Patienterne informeres (skriftligt og mundtligt) om protokollen ved et af de første ambulante besøg før start af behandling. Ved informationen redegøres for formål med studiet, procedurer, forbundne risici og strålehygiejniske forhold. Der gives ambulant tid til svar vedrørende deltagelse i

undersøgelsen i passende afstand fra den mundtlige information. Patienterne informeres om deres ret til at medbringe en bisidder ved den mundtlige information. Det vil blive understreget, at tilsagn om deltagelse til et hvert tidspunkt kan tilbagetrækkes, uden nogen forventet konsekvens for patientens behandling. Informationen tilstræbes givet i et for forsøgspersonen let forståeligt sprog. Folderen "Før du beslutter dig" udleveres til forsøgspersonen ved informations-samtalen, hvor der også gøres opmærksom på muligheder for at finde oplysninger fra de videnskabetiske komitéer om deltagelse i lægevidenskabelige forsøg.

Oplysninger vedrørende forsøgspersoner beskyttes i henhold til lov om behandling af personoplysninger og lov om patienters retsstilling.

Udtaget biologisk materiale vil efter projektets afslutning blive opbevaret i personhenførbart form. Materialet vil ikke blive videregivet til andre og vil kun kunne anvendes i et nyt forskningsprojekt med tilladelse fra Videnskabetisk Komité Region Midtjylland.

Lægemiddelstyrelsen har godkendt ^{18}F -FAZA og pimonidazol til humant eksperimentelt brug hos patienter. Projektet er godkendt af Den Videnskabetiske Komité for Region Midt, samt Datatilsynet.

Der ydes ikke honorar til forsøgspersonerne. Udgifter til transport i forbindelse med lægesamtaler, PET skanning og eventuelt afledte supplerende undersøgelser refunderes i henhold til gældende retningslinier.

Projektet er initieret af Professor dr. med. Jens Overgaard.

Projektet er støttet af The Lundbeck Foundation Centre for Interventional Research in Radiation Oncology (CIRRO), som bidrager med løn og forskningsinfrastruktur. Den forsøgsansvarlige har ingen økonomisk tilknytning til støttegiveren. Udgifter til PET skanning afholdes af de involverede institutioner.

Resultaterne, uanset positive eller negative, vil blive publiceret i form af en eller flere artikler i anerkendte internationale videnskabelige tidsskrifter i henhold til Vancouver reglerne.

Risikovurdering er beskrevet i detaljer i ovenstående afsnit 10 om bivirkninger, risici og ulemper. Samlet vurderes risici, ulemper og bivirkninger, inklusiv udsættelse for ekstra ioniserende stråling, at være acceptable i forhold til fordele for fremtidig forskning og behandling af patienter, samt projektets formål.

Dette studie forventes at bidrage med ny viden om tumor hypoksi og dermed udvikling af strålebehandling til patienter med hoved halskræft samt andre kræftformer. På længere sigt vil dette potentielt kunne lede til at biologisk information vil kunne integreres i strålebehandling, hvorved stråleresistente områder af tumor vil kunne modtage en højere dosis med henblik på at forbedre overlevelsen med acceptabel morbiditet for patienterne. Undersøgelsens resultater vil ikke få konsekvens for behandlingen af den enkelte patient, men projektet forventes at kunne komme fremtidige patienter til gavn.

Reference List

1. **Gray, L. H., A. D. CONGER, M. EBERT, S. HORNSEY, and O. C. SCOTT.** 1953. The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Br. J. Radiol.* **26**:638-648.
2. **Nordsmark, M., M. Overgaard, and J. Overgaard.** 1996. Pretreatment oxygenation predicts radiation response in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Radiother. Oncol.* **41**:31-39.
3. **Fyles, A., M. Milosevic, D. Hedley, M. Pintilie, W. Levin, L. Manchul, and R. P. Hill.** 2002. Tumor hypoxia has independent predictor impact only in patients with node-negative cervix cancer. *J. Clin. Oncol.* **20**:680-687.
4. **Overgaard, J., H. H. Sand, B. Lindelov, M. Overgaard, K. Jorgensen, B. Rasmussen, and A. Berthelsen.** 1991. Nimorazole as a hypoxic radiosensitizer in the treatment of supraglottic larynx and pharynx carcinoma. First report from the Danish Head and Neck Cancer Study (DAHANCA) protocol 5-85. *Radiother. Oncol.* **20 Suppl 1**:143-149.
5. **Ling, C. C., J. Humm, S. Larson, H. Amols, Z. Fuks, S. Leibel, and J. A. Koutcher.** 2000. Towards multidimensional radiotherapy (MD-CRT): biological imaging and biological conformality. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **47**:551-560.
6. **Rasey, J. S., Z. Grunbaum, S. Magee, N. J. Nelson, P. L. Olive, R. E. Durand, and K. A. Krohn.** 1987. Characterization of radiolabeled fluoromisonidazole as a probe for hypoxic cells. *Radiation Research* **111**:292-304.
7. **Lee, S. T. and A. M. Scott.** 2007. Hypoxia positron emission tomography imaging with 18f-fluoromisonidazole. *Semin. Nucl. Med.* **37**:451-461.
8. **Kumar, P., D. Stypinski, H. Xia, A. J. B. McEwan, H. J. Machulla, and L. I. Wiebe.** 1999. Fluoroazomycin arabinoside (FAZA): Synthesis, 2H and 3H-labelling and preliminary biological evaluation of a novel 2-nitroimidazole marker of tissue hypoxia. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **42**:3-16.
9. **Busk, M., M. R. Horsman, S. Jakobsen, S. Keiding, A. J. van der Kogel, J. Bussink, and J. Overgaard.** 2008. Imaging hypoxia in xenografted and murine tumors with 18F-fluoroazomycin arabinoside: a comparative study involving microPET, autoradiography, PO2-polarography, and fluorescence microscopy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **70**:1202-1212.
10. **Piert, M., H. J. Machulla, M. Picchio, G. Reischl, S. Ziegler, P. Kumar, H. J. Wester, R. Beck, A. J. McEwan, L. I. Wiebe, and M. Schwaiger.** 2005. Hypoxia-specific tumor imaging with 18F-fluoroazomycin arabinoside. *J. Nucl. Med.* **46**:106-113.

11. **Rischin, D., R. Fisher, L. Peters, J. Corry, and R. Hicks.** 2007. Hypoxia in head and neck cancer: studies with hypoxic positron emission tomography imaging and hypoxic cytotoxins. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **69**:S61-S63.
12. **Busk, M., M. R. Horsman, and J. Overgaard.** 2008. Resolution in PET hypoxia imaging: voxel size matters. *Acta Oncol.* **47**:1201-1210.
13. **Souvatoglou, M., A. L. Grosu, B. Roper, B. J. Krause, R. Beck, G. Reischl, M. Picchio, H. J. Machulla, H. J. Wester, and M. Piert.** 2007. Tumour hypoxia imaging with [18F]FAZA PET in head and neck cancer patients: a pilot study. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **34**:1566-1575.
14. **Pugachev, A., S. Ruan, S. Carlin, S. M. Larson, J. Campa, C. C. Ling, and J. L. Humm.** 2005. Dependence of FDG uptake on tumor microenvironment. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **62**:545-553.

APPENDIX I: STRÅLERISIKO

Dosiskoefficienten for ^{18}F -FAZA er 0,0149 mSv/MBq.

Beregningen er udført af fysiker Søren Baarsgaard Hansen, PET Centret i Århus på grundlag af data fra Souvatzoglou et al¹³.

Strålebelastningen i forbindelse med én ^{18}F -FAZA PET skanning (med 400 MBq ^{18}F -FAZA), estimeres til ca. 6 mSv. Strålebelastningen ved en CT med kontrast er ca. 2,5 mSv. Indgift af ca. 100 MBq ^{18}F -FAZA forud for operation estimeres til en strålebelastning på ca. 1,5 mSv.

Samlet vil patienten således maksimalt i denne protokol blive udsat for (6 mSv + 2,5 mSv + 1,5 mSv) = ca. 10 mSv.

Stråledosis ved ^{18}F -FAZA PET/CT skanning når ikke et niveau, der indebærer risiko for deterministiske skader. For stokastiske skader kendes ingen nedre tærskelværdi under hvilken, der med sikkerhed ikke er en øget risiko. Ioniserende stråling er et kendt karcinogen og øger risikoen for kræft dosis-afhængigt. Den bestråling, en ^{18}F -FAZA PET/CT skanning indebærer, vil give en risiko for samlet stokastisk skade på 10^{-4} . Hos en population af raske forsøgspersoner ville dette indebære, at livstids-risikoen for at dø af kræft ville stige fra 25,00 % til 25,05 %. Imidlertid er risikoen for ny cancer i studiepopulationen á priori langt større.

APPENDIKS II

Udførelse af ^{18}F -FAZA PET skanning

Patienten vil få anlagt venflon i vena basilica til indgift af den radioaktive tracer.

Herefter injiceres op til 400 MBq ^{18}F -FAZA intravenøst.

Patienten venter i seng eller stol i 2 timer, fulgt af en statisk PET skanning i 30 min i 25 cm transaxialt field of view. Skanningen vil blive foretaget på en kombineret PET/CT skanner, og idet omfang det er muligt, vil CT kontrast blive anvendt. (CT kontrast anvendes rutinemæssigt ved diagnostiske CT skanninger).

Analyse af ^{18}F -FAZA PET skanningen

Fordelingen af ^{18}F -FAZA i tumor og normalt væv (skeletmuskulatur) analyseres dels fra billeder, dels fra et standardiseret mål for aktivitetsoptagelsen i udvalgte områder (tumor, lymfeknude samt muskel) normaliseret til legemsvægten, SUV (Standardized Uptake Value). Såvel maksimal SUV som median SUV bestemmes, og ud fra dette bestemmes tumor/muskel ratio (T/M), som udtryk for mængden af hypoksi i tumor eller lymfeknuder. Forhøjet T/M vil initialt blive vurderet i forhold til medianen. PET billedernes ^{18}F -FAZA distribution sammenlignes med distributionen af ^{18}F -FAZA og pimonidazol i biopsi/operationspræparat.

Biopsi

Biopsien vil blive foretaget i dagene mellem skanningen og operationen. Biopsien vil være forudgået af injektion af pimonidazol og ^{18}F -FAZA boost.

Pimonidazol indgives intravenøst over 20 min. 2 timer inden biopsien tages. Der indgives 0,5 g/m² pimonidazol i 100 ml 0,9 % isotonisk saltvand.

^{18}F -FAZA boost: 100 MBq ^{18}F -FAZA indgives intravenøst 2 timer inden biopsien tages.

Biopsien vil blive markeret med henblik på retnings-angivelser i tre dimensioner.

Sammenligning af ^{18}F -FAZA og pimonidazol i operationspræparat/biopsi

Baseret på et autoradiogram kortlægges den spatiale PET tracer distribution i det pågældende snit af biopsien. Dette sammenlignes med distributionen af pimonidazol vurderet via immunofluorescence mikroskopi via et monoclonalt antistof, der er kommercielt tilgængeligt (Se www.hypoxyprobe.com). Metoden for sammenligning er udviklet af Pugachev et al. med ^{18}F FDG PET¹⁴, og af Busk et al. for ^{18}F -FAZA PET⁹. Ud fra den endelige pixel-by-pixel sammenligning, vil scatterplots blive genereret, og disse vil vise korrelationen mellem signalet fra autoradiogrammet (^{18}F -FAZA) og fluorescence intensiteten (pimonidazol).