

**Den prædiktive værdi af ^{18}F -FAZA-PET/CT ved
neoadjuverende strålebehandling til patienter med lokal
avanceret c. recti.**

Birgitte Mayland Havelund
John Pløen Mortensen
Anders Jakobsen

**Version 1
18.05 2010**

INDHOLD

Sponsor	3
Principal Investigator	3
Investigator	3
Deltagende afdelinger	4
Billeddiagnostik	4
Analyselaboratorium	4
Trial Office	4
Protokolresume	5
Studiets tidsplan	7
Baggrund	7
Hypotese	8
Formål	8
Design	9
Inklusionskriterier	9
Eksklusionskriterier	9
Screening før indgang i protokol	10
Patientforløb	10
Strålebehandling og Kemoterapi	11
¹⁸ F-FAZA-PET/CT scanning	11
End Points	11
Patientinformation og informeret samtykke	11
Evaluering	12
Kildedata	12
Biobank	12
Translational research	12
Udgang af studiet	12
Flow chart	13
Data management	13
Etiske aspekter	13
Forsikring	14
Finansiering	14
Statistik	14
Publikation	14
Referencer	15
Appendiks I -	17
Udførelse af ¹⁸ F-FAZA PET/CT scanningen	17
Appendiks II - Strålerisiko	18
Appendiks III - Blodprøve	19

Sponsor

Anders Jakobsen, professor, overlæge, dr. med.

Onkologisk afdeling

Vejle Sygehus

Kabeltoft 25,

7100 Vejle

Tlf. dir.: 7940 6010

Fax: 7940 6907

anders.jakobsen@slb.regionsyddanmark.dk

Dato

Underskrift

Principal Investigator

Birgitte Mayland Havelund, læge

Onkologisk afdeling

Vejle Sygehus

Kabeltoft 25,

7100 Vejle

Tlf. dir.: 7940 5292

birgitte.mayland.havelund@slb.regionsyddanmark.dk

Dato

Underskrift

Investigator

John Pløen, Overlæge

Onkologisk afdeling

Vejle Sygehus

Kabeltoft 25,

7100 Vejle

Tlf. dir.: 7940 6016

john.ploen@slb.regionsyddanmark.dk

Dato

Underskrift

Deltagende afdelinger

Onkologisk Afdeling, Vejle Sygehus

Billeddiagnostik

Paw Holdgaard, overlæge
Nuklearmedicinsk Afdeling
Vejle Sygehus
Kabeltoft 25
7100 Vejle
Tlf. dir.: 7940 5368

Søren R. Rafaelsen, overlæge
Røntgen Afdelingen
Vejle Sygehus
Kabeltoft 25
7100 Vejle
Tlf. dir.: 7940 5336

Analyselaboratorium

Jan Lindebjerg, overlæge
Patologisk afdeling
Vejle Sygehus
Kabeltoft 25
7100 Vejle
Tlf. dir.: 7940 6567
Fax: 7940 6907

Ledende molekylærbiolog cand. Scient Niels Pallisgaard
Laboriecentret
Vejle Sygehus
Kabeltoft 25
7100 Vejle
Tlf. dir.: 7940 6644
Fax: 7940 6907

Trial Office

Klinisk Forskningsenhed
Onkologisk Afdeling
Vejle Sygehus
Kabeltoft 25
7100 Vejle

Protokolresumé

Protokoltitel	Den prædiktive værdi af ¹⁸ F-FAZA-PET/CT ved neoadjuverende strålebehandling til patienter med lokal avanceret c. recti.
Forsøgsperiode og varighed	1. august 2010 – 1. august 2012
Baggrund	<p>Rectum cancer er en hyppig sygdom, der medfører betydelig morbiditet og mortalitet.</p> <p>Patienter, der på diagnosetidspunktet har lokalavanceret sygdom, tilbydes præoperativ langvarig strålebehandling med konkomitant kemoterapi. Denne behandling reducerer frekvensen af lokalrecidiv med ca. 50% og medfører øget komplikationsrisiko såvel akut som på længere sigt. 20-30% af de patienter, der modtager kemo-strålebehandling, opnår komplet patologisk respons, og hos disse patienter kunne det kirurgiske indgreb muligvis indskrænkes eller helt undgås. Der er dog behov for nye metoder til at prædiktere effekten af kemo-strålebehandling af cancer recti.</p> <p>Det er velkendt, at hypoksi er associeret til en mere aggressiv tumortype, og en række undersøgelser har vist korrelation mellem hypoksi og dårligere overlevelse ved flere cancerformer. Ligeledes er det kendt, at hypoksi er relateret til behandlingsresistens for både strålebehandling og kemoterapi. Hypoksi kan påvises ved flere metoder. "Golden standard" er direkte måling af ilt-tension ved hjælp af en elektrode, der føres ind i tumor. En anden hyppigt anvendt metode er anvendelse af pimonidazol - et stof, der efter intravenøs injektion ophobes i hypoksiske områder og derefter kan visualiseres ved immunhistokemiske metoder i væv fra tumor.</p> <p>Alternativt kan hypoksi påvises ved hjælp af proteiner, der er led i cellernes respons på hypoksi, for eksempel HIF-1α, hvilket også kræver væv fra tumor. Alle disse metoder er invasive og ikke egnede som praktiske metoder i den daglige klinik.</p> <p>I denne sammenhæng er det klinisk mere relevant at påvise hypoksi ved hjælp af PET-scanning med en hypoksi specifik tracer. En lovende tracer er ¹⁸F-FAZA, der har vist sig at være konsistent med hypoksi målt med andre metoder. Traceren er afprøvet på mennesker uden nævneværdige bivirkninger og vurderes klinisk brugbar. Desuden har ¹⁸F-FAZA en mere favorabel biokinetik end den hidtil mest anvendte tracer FMISO.</p>
Hypotese	Hypoksi i rectumtumorer er associeret med dårligere respons på kemo-radioterapi. Hypoksi visualiseret ved PET-scanning med ¹⁸ F-FAZA kan prædiktere respons af kemo-radioterapi.
Formål	<p>Det primære formål er at belyse ¹⁸F-FAZA-PETs rolle som prædiktør for respons på neoadjuverende kemo-strålebehandling af lokal avanceret c. recti.</p> <p>Sekundære formål er at belyse ¹⁸F-FAZA-PETs rolle som prædiktør for recidivfri og generel overlevelse samt at sammenholde ¹⁸F-FAZA-PET med histopatologiske og molekylærbiologiske markører, herunder HIF-1α.</p>
Design	Prospektivt markørstudie
Antal patienter planlagt	50
Udvælgelseskriterier	Inklusionskriterier

	<ul style="list-style-type: none"> • Histopatologisk verificeret adenokarcinom i rectum • T4 tumor eller T3 tumor < 10 cm fra anus og < 5 mm til den mesorectale fascie målt ved MR-scanning. I den distale del af rectum er afstanden til den mesorectale fascie < 5 mm og derfor medtages alle T3 tumorer i dette område • Egnede til præoperativ strålebehandling og kemoterapi • Ingen fjernmetastaser • Alder >18 år • Hæmatologi ANC $\geq 1.5 \times 10^9/l$. Thrombocytter $\geq 100 \times 10^9/l$. • Biokemi Bilirubinæmi $\leq 3 \times$ øvre normalværdi. ALAT $\leq 5 \times$ øvre normalværdi • Creatinin \leq øvre normalværdi • Kontraception for kvinder i den fertile alder • Skriftligt og mundtligt informeret samtykke <p>Eksklusionskriterier</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anden malign sygdom inden for 5 år bortset fra basocellulært karcinom i huden. • Tidligere strålebehandling mod bækkenet • Gravide og ammende • Operation inden for 6 uger • Alvorlig kongruerende medicinsk lidelse • Indgang i "Et prospektivt observationsstudie af patienter med cancer recti efter concomitant strålebehandling og kemoterapi", hvor patienterne potentielt ikke bliver opereret.
Behandling	Patienter modtager strålebehandling og konkomitant UFT/leukoverin efter afdelingens vanlige retningslinier.
Evaluering af effekt	Respons på kemo-strålebehandling vurderes af patolog efter TRG systemet.
Sikkerhed	<p>Uønskede hændelser og abnorme laboratorieværdier vil blive vurderet i overensstemmelse med de kriterier for utilsigtede hændelser, som er opstillet af NCI (National Cancer Institute), CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events version 3). Indrapporteres til relevante myndigheder efter gældende regler.</p> <p>Undersøgelsen vil blive gennemført i overensstemmelse med nærværende forsøgsprotokol, ICH-GCP guideline og gældende myndighedskrav/lovgivning.</p>

Studiets tidsplan

1. august 2010 – 1. august 2012

Baggrund

Rectumcancer er en hyppig sygdom, der medfører betydelig morbiditet og mortalitet. Der registreres hvert år i Danmark ca. 1300-1400 nye tilfælde af rectum cancer (1). På diagnosetidspunktet vil ca. 80% af patienterne have lokal sygdom og patienter med lokalavanceret sygdom tilbydes præoperativ kemo- og strålebehandling. Denne behandling reducerer frekvensen af lokalrecidiv med ca. 50% (2), men medfører også øget komplikationsrisiko såvel akut som på længere sigt. Af de patienter, der modtager kemo-strålebehandling, opnår 20-30% komplet patologisk respons (3;4), hvilket vil sige at der ikke findes nogen vitale tumorceller tilbage i den bortopererede tarm. Hvis man på forhånd kunne udvælge de patienter, der responderer fuldstændigt på behandlingen, kunne det kirurgiske indgreb muligvis indskrænkes eller helt undgås. Der er derfor et klart behov for nye metoder til at prædiktere effekten af kemo-strålebehandling af cancer recti.

Hypoksi er et kendt problem i forbindelse med udvikling af en tumor. Dette opstår når en tumor overstiger ca. 1 kubikmillimeter, hvormed cellerne ikke længere kan oxygenes ved hjælp af diffusion og derfor bliver hypoksiske. Hypoksi er påvist i mange tumortyper (5), men er kun sparsomt belyst ved rectum cancer. Det menes, at hypoksi er associeret til en klinisk mere aggressiv fænotype og korreleret til dårlig overlevelse ved flere cancerformer (6-8). Ligeledes er det kendt, at hypoksi er relateret til behandlingsresistens for både strålebehandling og kemoterapi.

Hypoksi kan påvises ved flere metoder. Direkte måling af ilt-tension med en elektrode, der føres ind i tumor, har været udført på nogle cancerformer, men dette er ikke muligt ved de fleste rectumtumorer på grund af deres placering. En anden hyppigt anvendt metode til påvisning af hypoksi er ved hjælp af pimonidazol, et stof, der efter intravenøs injektion ophobes i hypoksiske områder og derefter kan visualiseres ved immunhistokemi i biopsier eller hele den fjernede tumor. Denne metode er anvendt ved flere cancerformer, men er limiterende, idet den kræver udtagning af væv fra tumor. Kun et enkelt studie har ved hjælp af pimonidazol påvist hypoksi i 20 tumorer fra venstre side af colon og rectum (9).

Alternativt kan hypoksi visualiseres ved påvisning af proteiner, der er led i cellernes respons på hypoksi. Et sådan protein er HIF-1 α , hvis aktivitet er reguleret af tilstedeværelse af ilt og dermed detektabel i hypoksiske celler. HIF-1 α er vigtigt i cellens respons på hypoksi ved at igangsætte transkription af en række vigtige gener. HIF-1 α skal, ligesom pimonidazol, detekteres ved hjælp af immunhistokemi i patologisk væv fra tumor.

Studier af HIF-1 α s rolle ved rectumcancer har vist association mellem HIF-1 α og overlevelse efter postoperativ strålebehandling(10-12). Det er nærliggende at antage, at denne effekt er koblet til hypoksi.

Påvisning af Pimonidazol og HIF-1 α kræver biopsi fra tumor. Visualiseringen af disse markører ved hjælp af immunhistokemi er delvist subjektive og har en række fejlkilder. Desuden er HIF-1 α ikke 100 % hypoksi-afhængig.

En klinisk mere relevant og ikke invasiv metode til at påvise hypoksi er PET-scanning med en tracer, der visualiserer hypoksiske områder i tumorer. Der findes flere tracere, der kan visualisere hypoksi. De to mest brugte er ^{60}Cu -ATSM og især ^{18}F -FMISO (13). I ét studie har man scannet 17 rectumtumorer med ^{60}Cu -ATSM PET forud for kemoradioterapi. Man fandt, at hypoksi var associeret med graden af downstaging, 3 års "progression free survival" samt "overall survival" (14). Det er dog vanskeligt at drage konklusioner, da patientgrundlaget er lille.

Den mest anvendt og validerede tracer er imidlertid ^{18}F -FMISO. Flere studier har kunnet vise en sammenhæng mellem resultat af ^{18}F -FMISO scanning og prognose eller strålebehandlingsrespons (15). Problemer med biokinetikken har dog ført til udvikling af en ny tracer, ^{18}F -FAZA, der har vist sig at have en mere favorabel biokinetik (16;17). Prækliniske studier har vist sammenhæng mellem fordelingen af ^{18}F -FAZA og hypoksiske områder i xenograft tumormodeller målt ved hjælp af pimonidazol(18). ^{18}F -FAZA er afprøvet på flere tumortyper, tåles uden bivirkninger og vurderes klinisk brugbar (19;20).

Konklusivt kan det siges, at hypoksi i en tumor kan visualiseres ved hjælp af PET-scanning med ^{18}F -FAZA. Da hypoksi er associeret med dårligere respons på kemo- og strålebehandling, formodes ^{18}F -FAZA PET-scanning at have en prædiktiv værdi i forhold til kemo-radioterapi til lokalavanceret rectum cancer.

Hypotese

Hypoksi i rectum tumorer er associeret med dårligere respons på kemo-radioterapi. Hypoksi visualiseret ved PET-scanning med ^{18}F -FAZA kan prædiktere respons af kemo-radioterapi.

Formål

Primært formål

- At belyse ^{18}F -FAZA-PETs rolle som prædiktor for respons på neoadjuverende strålebehandling med konkomitant UFT hos lokal avanceret c. recti.

Sekundære formål

- At belyse ^{18}F -FAZA-PETs rolle som prædiktor for recidiv.
- At belyse ^{18}F -FAZA-PETs rolle som prædiktor for overlevelse.
- At sammenholde ^{18}F -FAZA-PET og histopatologiske og molekylærbiologiske markører, herunder HIF-1 α .

Design

Prospektivt markørstudie.

Inklusionskriterier

- Histopatologisk verificeret adenokarcinom i rectum
- T4-tumor eller T3 tumor < 10 cm fra anus og < 5 mm til den mesorectale fascie målt ved MR-scanning. I den distale del af rectum er afstanden til den mesorectale fascie < 5 mm og derfor medtages alle T3 tumorer i dette område
- Egnet til præoperativ strålebehandling og kemoterapi
- Ingen fjernmetastaser
- Alder >18 år
- Hæmatologi
ANC $\geq 1.5 \times 10^9/l$. Thrombocytter $\geq 100 \times 10^9/l$.
- Biokemi
Bilirubinæmi ≤ 3 x øvre normalværdi. ALAT ≤ 5 x øvre normalværdi
- Creatinin \leq øvre normalværdi
- Kontraception for kvinder i den fertile alder
- Skriftligt og mundtligt informeret samtykke

Eksklusionskriterier

- Anden malign sygdom inden for 5 år bortset fra basocellulært karcinom i huden.
- Tidligere strålebehandling mod bækkenet
- Gravide og ammende
- Operation inden for 6 uger
- Alvorlig kongruerende medicinsk lidelse
- Indgang i "Et prospektivt observationsstudie af patienter med cancer recti efter concomitant konkomitant strålebehandling og kemoterapi", hvor patienterne potentielt ikke bliver opereret.

Screening før indgang i protokol

Screening før indgang i protokollen omfatter:

- Grundig anamnese
- Objektiv undersøgelse med registrering af performance status, højde vægt og vitale funktioner
- Hæmatologi: Hæmoglobin, leukocytter, thrombocytter, ANC
- Biokemi: ALAT, bilirubin, LDH, albumin, creatinin, Na, K,
- MR-scanning af bækken
- CT scanning af thorax og abdomen
- Transrectal ultralydsscanning med ultralydselastografimåling.
- Præparatrevision foretages, hvis patient ikke er udredt på Vejle sygehus.

Patientforløb

Patienter med histopatologisk verificeret lokalavanceret rectum cancer bedømt ved CT- og MR scanning, der skal modtage præoperativ kemo-strålebehandling, tilbydes indgang i protokollen.

Patienten modtager kemo-strålebehandling efter afdelingens vanlige retningslinier og tilbydes operation 8 uger efter endt behandling.

Umiddelbart før start af behandlingen foretages ¹⁸F-FAZA-PET/CT scanning og der tages en blodprøve til undersøgelse af biologiske markører.

Under behandlingen foretages endoskopi med biopsi som en del af afdelingens sædvanlige praksis. Dette gøres 2, 4 og 6 uger efter start af behandlingen.

Strålebehandling og Kemoterapi

Afdelingens standardbehandling gives med IMRT teknik efter vanlige retningslinier. Ekstern strålebehandling 60 Gy på 30 fraktioner og endorectal brachyterapi 5 Gy, 1 gang. Konkomitant kemoterapi gives på behandlingsdage i form af UFT (300 mg/m²) og Isovorin.

¹⁸F-FAZA-PET/CT scanning

¹⁸F-FAZA-PET scanning foretages umiddelbart før behandlingsstart. Scanninger foretages på en PET/CT scanner, hvor CT-scanningen foretages med intravenøs kontrast, således at de anatomiske forhold visualiseres bedst muligt.

Scanninger foretages på nuklearmedicinsk afdeling, Vejle sygehus

¹⁸F-FAZA leveres fra nuklearmedicinsk afdeling Århus og der søges udleveringstilladelse ved Lægemiddelstyrelsen.

End Points

Det primære end point er

- Respons af kemo-radioterapi målt ved TRG

De sekundære end points er

- Recidivfri overlevelse
- Overlevelse
- Relevante molekylærbiologiske og histopatologiske markørers ekspresion i forhold til ¹⁸F-FAZA PET scanning

Patientinformation og informeret samtykke

Patienterne inkluderes efter såvel mundtlig som skriftlig information om undersøgelsen. Informationen skal omfatte studiets formål, risiko, fordele og ulemper. Patienterne tilbydes mindst 24 timers betænkningstid og skal være informeret om, at de til enhver tid kan trække deres samtykke tilbage, ligesom der skal være mulighed for at stille spørgsmål. Patienten har ret til en bisidder. Informeret samtykke skal indhentes før enhver studierelateret procedure. Underskrevet og dateret samtykke opbevares i aflåst lokale og er til enhver tid tilgængeligt for audit og inspektion.

Evaluering

¹⁸F-FAZA-PET: Hypoksiske områder evalueres ved hjælp af SUV i tumor i forhold til SUV i muskel, tumor-muskel ratio T/M.

Respons: Tumor resekeres 8 uger efter kemo-strålebehandling og effekt af behandling vurderes af patolog efter TRG systemet.

Recidiv: Recidivfri overlevelse måles fra inklusion til verificeret recidiv.

Overlevelse: Overlevelse måles fra inklusion til død af hvilken som helst årsag.

Histopatologiske og molekylærbiologisk markører: Væv fra diagnostik og efterfølgende operation undersøges for histopatologiske markører herunder HIF-1 α , der vurderes vha. immunhistokemi.

Blodprøver tages med henblik på at bestemme relevante Single Nucleotid Polymorfi (SNP), RNA og proteiner.

Kildedata

Patientens journal er kildedata for in- og eksklusionskriterier, demografiske data og forløbet under behandlingen.

Biobank

Der oprettes en biobank ved Klinisk Biokemisk og Patologisk Afdeling, Vejle Sygehus.

Translational research

Blodprøverne og væv vil blive analyseret ved afslutning af studiet for HIF-1 α og andre markører, der kan antages at have betydning for respons på behandlingen. De metoder, der skal anvendes, er allerede eksisterende eller under udvikling på Vejle Sygehus.

Udgang af studiet

- Patienter der ikke får foretaget efterfølgende resektion af tumor.
- Tilbagetrækning af samtykke

De patienter, som udgår af studiet, erstattes ikke af andre. Patienter, som udgår af studiet, følges til sygdomsprogression eller død.

Flow chart

Parameter	Screening før indgang	Under behandling	Efter studiets afslutning
Information og samtykke	x		
Adgangskriterier	x		
Anamnese og klinisk vurdering	x	Hver 2. uge som led i afdelingens vanlige praksis.	
Toksicitet	x	Hver 2. uge som led i afdelingens vanlige praksis.	4 uger efter 1. dag i sidste serie
Performance status	x		
Hæmatologi: Hæmoglobin, ANC, thrombocytter	inden for 2 uger før indgang i protokol	Hver uge som led i afdelingens vanlige praksis.	Efter endt protokolbehandling
Biokemi: Na, Ka, Bilirubin, ALAT, LDH, serum kreatinin,	inden for 2 uger før indgang i protokol	Hver 2. uge som led i afdelingens vanlige praksis.	Efter endt protokolbehandling
Blodprøve - biomarkører	x		
¹⁸ F-FAZA-PET	inden for 2 uger før indgang i protokol		
Endoskopi		Efter 2, 4 og 6 ugers behandling.	

Data management

Der vil blive oprettet en database indeholdende de relevante studiedata på Klinisk Forskningsenhed, Onkologisk Afdeling, Vejle Sygehus. Alle CRF-skemaer skal udfyldes omhyggeligt og underskrives af investigator. Opbevaring sker under aflåste forhold på Klinisk Forskningsenhed i mindst 5 år.

Etiske aspekter

Helsinki II deklARATION overholdes ubetinget, og undersøgelsen godkendes af Videnskabsetisk komite. Oplysninger vedrørende forsøgspersoner er beskyttet efter Lov om behandling af personoplysninger og Sundhedsloven.

Patienter vil blive informeret mundtligt og skriftligt og vil få tilbudt betænkningstid på mindst 24 timer, inden de afgiver svar med henblik på indgang i undersøgelsen.

Ved ¹⁸F-FAZA-PET scanningen vil patienterne få anlagt venflon, der er forbundet med mildt ubehag. ¹⁸F-FAZA er afprøvet på patienter uden der er observeret nogle nævneværdige bivirkninger. Den stråledosis, som patienterne får i forbindelse med PET scanningen (max. 15 mSv), skønnes ubetydelig i forhold til den strålebehandling, de gennemgår.

Patienterne vil modtage behandling efter afdelingens standarder, og indgang i dette studie medfører ingen behandlingsmæssige konsekvenser for patienterne.

Konklusivt kan det fremhæves, at patienterne ikke udsættes for nogen nævneværdig ekstra risiko, da den stråledosis ^{18}F -FAZA-PET scanningen påfører patienten er ubetydelig i forhold til den stråledosis, de udsættes for ved strålebehandlingen.

Forsikring

Patienter, der deltager i studiet, er dækket af "Lov om klage og erstatningsgang inden for Sundhedsvæsenet".

Finansiering

Studiet er støttet af "The Lundbeck Foundation Center for Interventional Research in Radiation Oncology "(CIRRO) med 40.000 kr.

Statistik

Man vil ved dette studie undersøge om ^{18}F -FAZA PET scanning kan identificere en klinisk interessant prædiktiv værdi for respons af kemo-radioterapi. Undersøgelsen er hypotese-genererende og et patientantal på 50 skønnes at være tilstrækkeligt.

Resultaterne af ^{18}F -FAZA PET scanning og effekten af kemo-radioterapi på tumor, vil formentlig mest hensigtsmæssigt blive behandlet ved hjælp af non-parametrisk statistik. Der vil blive foretaget en kvantitativ sammenligning mellem ^{18}F -FAZA PET scanning målt på en kontinuerlig skala og respons på tumor målt på en intervallskala. Overlevelse vil blive undersøgt med Kaplan-Meier metoden.

Publikation

Resultaterne af undersøgelsen vil blive søgt publiceret i et relevant engelsksproget tidsskrift. Forfatterskabet følger Vancouver-reglerne.

Referencer

- (1) Sundhedsstyrelsen. Cancerregistret 2008. 2009.
Ref Type: Generic
- (2) Danish Colorectal Cancer Group. Retningslinier for diagnostik og behandling af kolorektal cancer, 4. udgave, 2009. 2009.
Ref Type: Generic
- (3) Jakobsen A, Mortensen JP, Bisgaard C, Lindebjerg J, Hansen JW, Rafaelsen SR. Preoperative chemoradiation of locally advanced T3 rectal cancer combined with an endorectal boost. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006 February 1;64(2):461-5.
- (4) Lindebjerg J, Spindler KL, Ploen J, Jakobsen A. The prognostic value of lymph node metastases and tumour regression grade in rectal cancer patients treated with long-course preoperative chemoradiotherapy. *Colorectal Dis* 2009 March;11(3):264-9.
- (5) Begg AC, Janssen H, Sprong D, Hofland I, Blommesteijn G, Raleigh JA et al. Hypoxia and perfusion measurements in human tumors--initial experience with pimonidazole and IUdR. *Acta Oncol* 2001;40(8):924-8.
- (6) Hockel M, Schlenger K, Aral B, Mitze M, Schaffer U, Vaupel P. Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix. *Cancer Res* 1996 October 1;56(19):4509-15.
- (7) Hockel M, Vaupel P. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects. *J Natl Cancer Inst* 2001 February 21;93(4):266-76.
- (8) Zhang Y, Li M, Yao Q, Chen C. Recent advances in tumor hypoxia: tumor progression, molecular mechanisms, and therapeutic implications. *Med Sci Monit* 2007 October;13(10):RA175-RA180.
- (9) Goethals L, Debucquoy A, Perneel C, Geboes K, Ectors N, De SH et al. Hypoxia in human colorectal adenocarcinoma: comparison between extrinsic and potential intrinsic hypoxia markers. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006 May 1;65(1):246-54.
- (10) Theodoropoulos GE, Lazaris AC, Theodoropoulos VE, Papatheodosiou K, Gazouli M, Bramis J et al. Hypoxia, angiogenesis and apoptosis markers in locally advanced rectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2006 April;21(3):248-57.
- (11) Lu XG, Xing CG, Feng YZ, Chen J, Deng C. Clinical significance of immunohistochemical expression of hypoxia-inducible factor-1alpha as a prognostic marker in rectal adenocarcinoma. *Clin Colorectal Cancer* 2006 January;5(5):350-3.
- (12) Rasheed S, Harris AL, Tekkis PP, Turley H, Silver A, McDonald PJ et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha and -2alpha are expressed in most rectal cancers but only hypoxia-inducible factor-1alpha is associated with prognosis. *Br J Cancer* 2009 May 19;100(10):1666-73.

- (13) Dunphy MP, Lewis JS. Radiopharmaceuticals in preclinical and clinical development for monitoring of therapy with PET. *J Nucl Med* 2009 May;50 Suppl 1:106S-21S.
- (14) Dietz DW, Dehdashti F, Grigsby PW, Malyapa RS, Myerson RJ, Picus J et al. Tumor hypoxia detected by positron emission tomography with ⁶⁰Cu-ATSM as a predictor of response and survival in patients undergoing Neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal carcinoma: a pilot study. *Dis Colon Rectum* 2008 November;51(11):1641-8.
- (15) Lee ST, Scott AM. Hypoxia positron emission tomography imaging with ¹⁸F-fluoromisonidazole. *Semin Nucl Med* 2007 November;37(6):451-61.
- (16) Piert M, Machulla HJ, Picchio M, Reischl G, Ziegler S, Kumar P et al. Hypoxia-specific tumor imaging with ¹⁸F-fluoroazomycin arabinoside. *J Nucl Med* 2005 January;46(1):106-13.
- (17) Reischl G, Dorow DS, Cullinane C, Katsifis A, Roselt P, Binns D et al. Imaging of tumor hypoxia with [¹²⁴I]IAZA in comparison with [¹⁸F]FMISO and [¹⁸F]FAZA--first small animal PET results. *J Pharm Pharm Sci* 2007;10(2):203-11.
- (18) Busk M, Horsman MR, Jakobsen S, Keiding S, van der Kogel AJ, Bussink J et al. 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* 2008 March 15;70(4):1202-12.
- (19) Postema EJ, McEwan AJ, Riauka TA, Kumar P, Richmond DA, Abrams DN et al. Initial results of hypoxia imaging using 1-alpha-D: -(5-deoxy-5-[¹⁸F]-fluoroarabinofuranosyl)-2-nitroimidazole (¹⁸F-FAZA). *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009 October;36(10):1565-73.
- (20) Souvatzoglou M, Grosu AL, Roper B, Krause BJ, Beck R, Reischl G et al. Tumour hypoxia imaging with [¹⁸F]FAZA PET in head and neck cancer patients: a pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007 October;34(10):1566-75.

Appendiks I - Udførelse af ¹⁸F-FAZA PET/CT scanningen

Alle patienterne skannes med en Gemini TF Philips Brilliance 64 channel PET/CT skanner (Philips Healthcare, Netherlands). Der udføres 3 skanninger umiddelbart efter hinanden med patienten lejret på skanneren. Først en dæmpningskorrigerende CT tom-skanning til at korrigere PET optagelserne med, dernæst PET-skanningen og sidst en diagnostisk CT med intravenøs kontrast.

¹⁸F-FAZA PET/CT skanningen:

Patienterne vil få anlagt en venflon i en albuevene, hvori der injiceres 200 MBq (max 300 MBq) ¹⁸F-FAZA. Patienten venter i seng eller stol i 2 timer, hvorefter skanningerne udføres. Der optages statisk PET skanning i 3 bed-positioner, som dækker 35 cm med 5 min pr bed, i alt 15 minutter. Rekonstrueres med producenten Philips rekonstruktionsprotokol: Body-CTAC-NAC, som giver både CT attenuated and non-attenuated PET billeder (transaxial).

Den dæmpningskorrigerende CT tom-skanning udføres med følgende acquisitions parametre for 64 kanals CT skanningen: 120 kV; 50 mAs; Pitch 0.829; Collimation 64x0.625; Rotation time 0.5 sec; FOV 60 cm. Rekonstrueres med en snittykkelse på 5 mm, increment 2,5 mm og standard B filter.

Til den diagnostisk CT anvendes følgende acquisitions parametre for 64 kanals CT skanningen: 120 kV, 165 mAs, Rot.tid 0,5 sec, collimation 4 x 2,5 mm, Feed 15 mm, Recon (snittykkelse/ Increment) 3/2. FOV minimum ved hudoverfladen.

Patienterne får en intravenøs injektion af 100 mL ioversol (Optiray 350 mg I/mL, Mallinckrodt Imaging) i en albuevene via en automatisk injektionspumpe, OptiVantage™ DH (Mallinckrodt, Cincinnati, Ohio, USA) med en injektionsrate på 4 ml/sec, og et delay på 30 sec. Alle skanningsbillederne evalueres af erfaren gastroradiolog på en Impax PACS arbejdsstation (Agfa, Mortsel, Belgium) med to Coronis monitorer (1600x1200 pixels), Megapixels Diagnostic Display System (Barco, Kortrijk, Belgium). Alle billederne lagres i PACS.

Analyse af ¹⁸F-FAZA PET/CT skanninger:

PET billederne evalueres af erfaren PET nuklearmediciner på Extended Brilliance Workspace arbejdsstation (Philips, version 4.0.3.5). Alle billederne lagres i PACS. Fordelingen af ¹⁸F-FAZA i tumor og normalt væv (skeletmuskulatur) analyseres visuelt fra billederne. Desuden kvantitativt med et standardiseret mål for aktivitetsoptagelsen: Standard uptake value (SUV), som er normaliseret til legemsvægten. Såvel maksimal SUV som median SUV bestemmes og primært fra sidstnævnte bestemmes tumor/muskel ratio (T/M) som et udtryk for mængden af hypoksi i tumor.

Appendiks II - Strålerisiko

Beregninger er udført af speciallæge i nuklearmedicin Paw Holdgaard, Vejle sygehus og kontrolleret af fysiker Jørn Tønder, som er tilknyttet Nuklearmedicinsk afdeling, Vejle sygehus og Medicoteknisk afdeling, Sygehus Lillebælt.

Ifølge E. J. Postema et al.(19) er dosiskoefficienten for ^{18}F -FAZA 0,0123 mSv/MBq for mænd og 0,0165 mSv/MBq for kvinder.

^{18}F -FAZA dosis til patienterne er i gennemsnit 200 MBq og maksimalt 300 MBq, som giver en estimeret maksimal strålebelastning på 5 mSv. Hertil kommer en almindelig diagnostisk CT undersøgelse af abdomen, som giver 8 mSv samt en dæmpningskorrigerende CT tom-skanning af samme område til at korrigere PET billederne, der giver 1,8 mSv. I alt 14,8 mSv. Til sammenligning kan oplyses, at den årlige baggrundsstråling i Danmark ligger på ca. 3 mSv, hvorfor undersøgelsen svarer til knap 5 års naturlig baggrundsstråling

Strålebelastningen ved ^{18}F -FAZA undersøgelsen er på et så lavt niveau, at det ikke indebærer risiko for deterministiske skader. Der kendes ingen nedre grænseværdi, hvor den ioniserende stråling med sikkerhed ikke giver en øget risiko for stokastiske skader. Ioniserende stråling er kendt karcinogen og øger risikoen for kræft afhængig af dosis. Ved udsættelse for en dosis på 15 mSv stiger risikoen for at inducere en kræftsygdom med 0,075 %. Dette skal sammenholdes med den generelle livstidsrisiko i befolkningen for at dø af kræft, som er 25%. Denne risiko vil således stige til 25,075%

Patienterne i denne undersøgelse vil som følge af deres strålebehandling modtage en stråledosis, som er mange gange højere. Den øgede stråledosis i forbindelse med ^{18}F -FAZA undersøgelsen betragtes derfor som ubetydelig i forhold til at indvirke på patientens overlevelse og udvikling af sekundær malignitet.

Appendiks III - Blodprøve

Blodprøve tages før start af kemo- og strålebehandlingen

Til DNA: 1*3 ml EDTA glas fuldblod til DNA oprensning kommes direkte i fryseren.

Til RNA: 1*2,5 ml Pax gene glas tages efter instruks. Glasset skal stå i mindst 2 timer og fryses derefter.

Til Plasmamarkører: 1*9 ml EDTA glas centrifugeres, og plasma udpositioneres i 4 rør.

Til Serummarkører: 1*9 ml tørglas centrifugeres og serum udpositioneres i 4 rør.