

# CHAPTER

Nederlandse samenvatting

# 18



Dit proefschrift heeft enerzijds als doel meer inzicht te geven in het ziektebeeld diffuus intrinsiek ponsglioom (DIPG), en anderzijds om het onderzoek naar DIPG efficiënter te doen verlopen. Het proefschrift is onderverdeeld in drie delen, beginnend bij de eerste DIPG-specifieke studies in Nederland (Deel I). Omdat DIPG zeer zeldzaam is, hebben deze studies een orde van grootte van maximaal 9 patiënten. Om de heersende onderzoeksvragen beter en sneller te kunnen beantwoorden werd de omvang van het onderzoek vergroot middels retrospectieve literatuur- en cohortstudies die werden uitgevoerd op nationale, Europese en wereldwijde schaal, waarbij aantallen van maximaal 316 patiënten werden behaald (Deel II). Dit werk vormde de basis voor de ontwikkeling van een internationale infrastructuur voor gezamenlijke onderzoeksinitiatieven en een DIPG register voor het verzamelen van grootschalige uniforme data, wat in 2016 resulteerde in de eerste wereldwijde studie met meer dan 1100 DIPG patiënten (Deel III).

**Hoofdstuk 1** beschrijft de, in 2012 heersende, kennis op het gebied van DIPG en plaatst dit in het historisch kader. Ook beschrijft het de hiaten in de kennis en de hypothesen die leidend waren voor het onderzoek in dit proefschrift. Het hoofdstuk wordt afgesloten met een gedetailleerd overzicht van de doelstellingen van de verschillende studies.

## DEEL I – DE EERSTE DIPG-SPECIFIEKE STUDIES IN NEDERLAND

In maart 2012 was onderzoek op het gebied van DIPG regionaal georganiseerd, kleinschalig en geografisch verspreid. In Nederland werd nooit eerder een prospectieve klinische DIPG trial voltooid. Dankzij de financiële steun van Stichting Semmy, werd de mogelijkheid gecreëerd de eerste DIPG-specifieke single- en multicenter studies op te zetten. De studies, geïnitieerd in en vanuit VU medisch centrum, hebben betrekking op meerdere aspecten van DIPG, variërend van de ziekteverschijnselen, diagnostiek en behandeling, tot preklinisch laboratoriumonderzoek op tumormateriaal verkregen via autopsie. Deel I van dit proefschrift (hoofdstuk 2–6) beschrijft de resultaten van deze studies in volgorde van het klinisch beloop van de patiënt, van het moment van diagnose tot na het overlijden.

**Hoofdstuk 2** beschrijft de resultaten van de eerste DIPG-specifieke klinische trial in Nederland: de DIPG studie VUmc 01 (Nederlands Trial Register: NTR2391) - fase A. Deze Fase I/II studie onderzocht de verdraagbaarheid en preliminaire werkzaamheid van het radiosensitiserende middel gemcitabine toegevoegd aan de standaardbehandeling (30 x 1.8 Gy bestraling) via een 3-staps dosis-escalatie bij nieuw-gediagnostiseerde DIPG patiënten. De resultaten tonen aan dat toevoeging van gemcitabine in doses van 140, 175 en 200 mg/m<sup>2</sup> veilig is en goed verdragen wordt. Alle patiënten ervoeren vermindering van tumor-gerelateerde symptomen en de kwaliteit van leven bleek tijdens de behandeling te verbeteren. De progressie-vrije overleving en totale

overleving waren niet verschillend van de literatuur. Deze studie creëert een basis voor toekomstige klinische trials naar de veiligheid, tolerantie, optimale dosering en werkzaamheid van gemcitabine toegevoegd aan radiotherapie in de behandeling van DIPG.

In **hoofdstuk 3** worden de resultaten beschreven van de eerste moleculaire beeldvorming-studie ooit uitgevoerd in kinderen. In deze studie werd bevacizumab (Avastin<sup>®</sup>) radioactief gelabeld met zirkonium-89 (<sup>89</sup>Zr). Vervolgens werd de verdeling in het lichaam en de tumor-opname gevisualiseerd door middel van PET uitgevoerd op 1, 72 en 144 uur na injectie. De resultaten tonen aan dat moleculaire beeldvorming haalbaar en veilig is in DIPG patiënten van 6 jaar en ouder, zonder het gebruik van anesthesie. Er hebben zich geen ongewenste voorvallen (i.e., 'adverse events') voorgedaan tijdens de procedures. Op basis van de 'standard uptake value (SUV) ratio tussen tumor en bloed, die toenam over de tijd ( $p = 0,045$ ), werd bepaald dat een PET-scan op 144 uur na toediening het optimale scanmoment is. Bij zeven DIPG patiënten werd een grote inter- en intratumorale heterogeniteit van <sup>89</sup>Zr-bevacizumab-opname gezien, die slechts deels overeen kwam met de gadolinium opname op T1-gewogen MRI beelden. Analyse van de verdeling in het lichaam resulteerde in een toxiciteitsprofiel met relatief hoge orgaanopname van bevacizumab in de lever, nieren, longen en beenmerg, en een gemiddelde effectieve stralingsdosis per patiënt van  $0,9 \pm 0,3$  mSv/MBq. De resultaten suggereren een aanzienlijke variabiliteit in de doelmatigheid (i.e., 'drug delivery' en 'targeting') van bevacizumab in DIPG patiënten, mogelijk gerelateerd aan variabele integriteit van de bloed-hersen-barrière (BHB) en/of heterogene expressie van vascular endothelial growth factor (VEGF). Deze studie laat zien dat beeldvorming van <sup>89</sup>Zr-bevacizumab opname middels PET mogelijk van waarde kan zijn voor het selecteren van potentiële kandidaten voor bevacizumab behandeling in DIPG. Tegelijkertijd kan hiermee onnodige toxiciteit worden voorkomen in patiënten waar geen tumor-opname wordt gezien.

**Hoofdstuk 4** beschrijft de resultaten van een fluor-18 fluorodeoxyglucose (<sup>18</sup>F-FDG) PET-studie. Om referentiewaarden van <sup>18</sup>F-FDG opname in de pons van kinderen met een niet-aangedane hersenstam te produceren, werden SUV ratios bepaald van de pons versus het cerebellum ( $SUV_{p/c}$ ) en versus de occipitaal kwab ( $SUV_{p/o}$ ) in 36 niet-DIPG patiënten die <sup>18</sup>F-FDG-PET scans ondergingen voor epilepsiechirurgie-planning. De relatieve SUV-waarden bleken opvallend constant ( $SUV_{p/c} 0.65 \pm 0.054$  en  $SUV_{p/o} 0.51 \pm 0.056$ ), ongeacht het geslacht, de leeftijd of het pons volume, en kunnen derhalve worden gebruikt als referentiewaarden voor <sup>18</sup>F-FDG PET studies naar aandoeningen van de pons. Zes DIPG patiënten werden vergeleken met de nieuw-verkregen referentiewaarden. Bij deze patiënten bleek de relatieve <sup>18</sup>F-FDG opname hoger ( $SUV_{p/c} 0.74 \pm 0.20$  en  $SUV_{p/o} 0.65 \pm 0.30$ ), maar niet statistisch significant, waarschijnlijk door

de kleine groepsgrootte. Toekomstig onderzoek moet uitwijzen of het bepalen van de  $^{18}\text{F}$ -FDG PET van waarde is in de classificatie, prognosticatie en responsevaluatie van DIPG-patiënten.

In **Hoofdstuk 5** worden de resultaten van een multicenter 'whole-brain' DIPG autopsie-studie beschreven. Multiregionale tumor-samples toonden uitgebreide morfologische heterogeniteit met hooggradige- (WHO graad IV) en laaggradige tumorgebieden (met zelfs een WHO graad 1-gelijkend pilocytair astrocytoom- en subependymoom-achtig fenotype). Zeven van de negen tumoren bleken H3 K27M-mutant (67% H3.3, 11% H3.1). Zoals verwacht, verloren deze tumoren H3 K27 trimethylatie (H3 K27me3) immunoreactiviteit in alle tumorcellen, ongeacht het lokale histopathologisch fenotype of de WHO gradering. Opvallend was dat in de twee patiënten met een H3 'wildtype' DIPG ook H3 K27me3-immunonegatieve gebieden gevonden werden, tevens onafhankelijk van het lokale histopathologisch fenotype of de WHO gradering. De resultaten laten zien dat histopathologische karakterisering en immunohistochemische kleuring voor H3 K27me3-status in enkelvoudige, kleine bipten kan leiden tot foutieve interpretatie. Wij bevelen daarom mutatieanalyse van het histon H3 gen aan, in aanvulling op de huidige klinisch-radiologische benadering, omdat daarmee 80-90% van de tumoren correct kan worden geclassificeerd. Toekomstig onderzoek naar de oorsprong en het gevolg van heterogeen verlies van H3 K27me3 in H3 K27 wildtype DIPG moet de kennis over deze specifieke patiënten subgroep vergroten.

**Hoofdstuk 6** beschrijft de ziektegeschiedenis van een 12-jarige patiënt die kort na deelname aan de  $^{89}\text{Zr}$ -bevacizumab-PET-studie overleed en waarvan de ouders toestemming gaven voor het verrichten van een autopsie. Bij autopsie werden van verschillende hersenenregio's monsters verkregen van tumor materiaal en (op het oog) gezond weefsel. Deze monsters werden onderworpen aan *ex vivo*  $^{89}\text{Zr}$ -bevacizumab meting en analyse van de lokale histopathologie en vasculaire morfologie. Tumormateriaal waarin veel vasculaire proliferatie werd waargenomen, toonden ook hoge opname van  $^{89}\text{Zr}$ -bevacizumab. Dit suggereert dat vasculaire proliferatie een belangrijke determinant is voor bevacizumab-opname in DIPG-patiënten.

## DEEL II – HISTORISCHE EN INTERNATIONALE ONDERZOEKS-INITIATIEVEN

Omdat DIPG zeer zeldzaam is, leveren de regionaal georganiseerde, kleinschalige onderzoeksinitiatieven onvoldoende gegevens op om de vele onderzoeksvragen te beantwoorden. In deel II van dit proefschrift (hoofdstukken 7–13) werd de omvang van het onderzoek daarom vergroot tot een breder perspectief, zowel in tijd als in schaal.

**Hoofdstuk 7** presenteert de resultaten van een nationale, retrospectieve cohortstudie, waarin alle kinderen, die tussen 1990 en 2010 werden gediagnostiseerd met DIPG, werden geëvalueerd. De incidentie van DIPG in Nederland bleek ongeveer negen patiënten per jaar (0,54 per 1.000.000; 2,32 per 1.000.000 in de leeftijd van 0–20 jaar), variërend van 5–13 per jaar. Er werd aangetoond dat in deze periode slechts 18% van de DIPG patiënten werd geïncludeerd in klinische trials, wat heeft resulterde in een grote heterogeniteit aan onvergelykbare, geïndividualiseerde behandelingsschema's, die door het gebrek aan evidence-based richtlijnen meestal waren gebaseerd op lokale richtlijnen.

**Hoofdstuk 8** beschrijft een literatuuronderzoek uitgevoerd waarin alle chemotherapeutica die wereldwijd ooit zijn toegediend aan DIPG-patiënten werden geïdentificeerd. Vervolgens werd een theoretisch model ontwikkeld waarin alle fysisch-chemische eigenschappen werden opgenomen die bepalend zijn voor de mate van passieve diffusie over een intacte BHB na intraveneuze toediening. Ook werd gekeken naar eigenschappen die bepalend zijn wanneer middelen lokaal in de tumor worden toegediend via 'convection-enhanced-delivery' (CED). Toepassing van het model op de lijst met gevonden chemotherapeutica toont aan dat de meeste middelen die werden toegediend aan DIPG patiënten moleculair geladen, hydrofiel en relatief groot zijn, en daarom mindergeschikt voor passieve diffusie over een intacte BHB. Lokale toediening via CED is minder afhankelijk van de grootte en de hydro-/lipofiliteit van een geneesmiddel, en sluit alleen positief geladen chemotherapeutica uit. De resultaten van deze studie laten zien dat veel chemotherapeutica die in het verleden via de systemische route zijn toegediend aan DIPG patiënten, in potentie hogere therapeutische concentraties behalen wanneer ze via CED worden toegediend. Deze studie zou mogelijk kunnen leiden tot een efficiëntere keuze van chemotherapeutica in de behandeling van DIPG patiënten in de toekomst, zeker wanneer combinatietherapieën met meerdere toedieningsroutes worden overwogen.

**Hoofdstuk 9** beschrijft een retrospectieve cohortstudie van 63 DIPG-patiënten die in hun palliatief traject werden begeleid in twee kinderziekenhuizen in Londen. Symptomen, interventies en zorg verleent tijdens de 12 weken voorafgaand aan de dood, werden geanalyseerd. De resultaten tonen aan dat meer dan 80% van de patiënten last kreeg van problemen met mobiliteit, slikken, communicatie, bewustzijn en ademhaling. Ondersteunende medicatie werd vaak voorgeschreven, maar ondersteunende hulpmiddelen (zoals een spraakcomputer) in slechts 15% van de patiënten. Daarnaast werd een digitale enquête wereldwijd verspreid onder behandelaars, waarin de (multi) institutionele en (inter)nationale benadering van palliatieve zorg voor DIPG-patiënten werd geïnventariseerd. Hiermee werd aangetoond dat palliatieve zorg en zorg rondom

het levenseinde vooral was gebaseerd op de ervaring van de zorgverlener; slechts 21% van de respondenten gaf aan een ziekte-specifieke richtlijn voor palliatieve zorg tot zijn beschikking te hebben. Deze studie vormt de basis voor het ontwikkelen van internationale ziekte-specifieke richtlijn voor palliatieve zorg in DIPG patiënten.

In **Hoofdstuk 10** wordt het huidige gebruik van steroïden ter verlichting van symptomen bij DIPG patiënten onderzocht. Uit een wereldwijde enquête onder behandelaars bleek dat de overgrote meerderheid van de respondenten, 140 van de 150, geen ziekte-specifieke richtlijn voor het voorschrijven van steroïden ter beschikking hebben. Analyse van het huidige gebruik toonde grote heterogeniteit in de voorgeschreven doseringen, de duur van de behandeling en de manier waarop de behandeling werd afgebouwd. Dit terwijl 85% van de respondenten ernstige bijwerkingen waarneemt bij patiënten. Een uitgebreid literatuuronderzoek naar het gebruik van steroïden in kinderen met hersentumoren leverde slechts 14 artikelen, veelal van laag wetenschappelijk niveau. Geconcludeerd werd dat goede klinische trials naar de optimale dosering of het optimale behandelingschema ontbreken. Deze studie vormt de basis voor het opzetten van een internationale trial met als doel het ontwikkelen van een ziekte-specifieke richtlijn voor het gebruik van steroïden in DIPG patiënten.

**Hoofdstuk 11** beschrijft het eerste multicenter cohortonderzoek op Europese schaal. In deze studie werd de MRI bij diagnose van 316 patiënten uit Nederland, het Verenigd Koninkrijk en Duitsland her-beoordeeld door een expert op het gebied van de neuroradiologie. Retrospectief werd geanalyseerd welke klinische en radiologische variabelen invloed hebben op de overleving van DIPG-patiënten. Er werd een multivariabel 'DIPG-survival predictiemodel' ontwikkeld. Drie variabelen werden geïdentificeerd die een gunstige invloed hebben op de overleving: leeftijd onder de 3 jaar, langere symptoomduur voor diagnose en behandeling met chemotherapie. Er werd één ongunstige variabele gevonden: ring-aankleuring op de diagnostische MRI na contrast toediening. Op basis van het predictiemodel werd voor elke patiënt een risicoscore bepaald. Het model bleek in staat patiënten te verdelen in drie risicogroepen die van elkaar worden onderscheiden op basis van een verschil in overleving van respectievelijk 7.0 (hoog risico), 9.7 (gemiddeld risico) en 13.7 maanden (laag risico).

In **Hoofdstuk 12** wordt de betrouwbaarheid van het DIPG-survival predictiemodel getoetst door middel van externe validatie in een gelijkend, maar onafhankelijk cohort met 249 DIPG-patiënten uit de Verenigde Staten, Canada en Australië. De betrouwbaarheid van het model werd geëvalueerd door het analyseren van de prestaties op het gebied van 'kalibratie' en 'discriminatie'. Er werd aangetoond het model voldoende goed kalibreert in een onafhankelijk cohort en goed kan discrimineren tussen patiënten met een kortere, gemiddelde en langere overleving. Het DIPG-survival

predictiemodel is hiermee gevalideerd voor gebruik in de klinische praktijk. Het model kan een nuttige rol spelen, met name voor retrospectieve risico-classificatie in de herbeoordeling van historische klinische trials.

In **Hoofdstuk 13** vond een kritische evaluatie plaats van een Franse cohortstudie waarin werd aangetoond dat de histon H3 mutatiestatus een sterk voorspellende waarde heeft voor de overleving van DIPG-patiënten, mogelijk beter dan het DIPG-survival predictiemodel. We disputeren of dit een geldige conclusie is.

### **DEEL III – EEN NIEUW TIJDPERK VOOR DIPG ONDERZOEK: GEZAMENLIJKE STUDIES OP GROTE SCHAAL**

Deel III van dit proefschrift (hoofdstukken 14 en 15) richt zich op de organisatie van onderzoek op het gebied van DIPG en heeft als doel de efficiëntie hiervan in de toekomst te vergroten.

**Hoofdstuk 14** beschrijft de ontwikkeling en implementatie van een internationaal registratiesysteem voor DIPG-patiënten: de 'SIOPE DIPG Registry' en 'Imaging Repository'. Dit project is voortgekomen uit de oprichting van een internationale infrastructuur waarbinnen (bio)medisch experts uit verschillende landen binnen en buiten Europa hun expertise delen en krachten bundelen: het 'SIOPE DIPG Network'. Sinds de ingebruikname van de 'SIOPE DIPG Registry' en 'Imaging Repository' in april 2016 werden gestandaardiseerde klinische gegevens, alsmede MR-scans van meer dan 694 DIPG-patiënten uit verschillende landen geregistreerd. Hiermee zijn voor het eerst grote datasets beschikbaar voor onderzoek naar klinische, radiologische- en biologische kenmerken, alsmede belangrijke aspecten ten aanzien van de diagnostiek, behandeling, kwaliteit van leven en ondersteunende zorg.

**Hoofdstuk 15** beschrijft de eerste wereldwijde studie op het gebied van DIPG, die is voortgekomen uit de oprichting van de 'SIOPE DIPG Registry' en de 'International DIPG Registry'. Het omvat de grootste en meest uitgebreide analyse van centraal beoordeelde DIPG patiënten wereldwijd en bevat het grootste cohort patiënten waarvan de histon mutatie status bekend is. Onder 1130 patiënten met radiologisch-bevestigde DIPG waren 101 (10%) 'langere termijn overlevenden', historisch gedefinieerd als patiënten die  $\geq 24$  maanden na diagnose nog in leven waren). De mediane overleving voor het gehele cohort was 11 maanden (range 0-167 maanden) en de 1-, 2-, 3-, 4- en 5-jaars overleving was respectievelijk 42,3%, 9,6%, 4,3%, 3,2% en 2,2%. Met behulp van univariate en multivariate analyses werden significante voorspellers van langdurige overleving geïdentificeerd, waaronder leeftijd  $< 3$  of  $> 10$  jaar, langere symptoomduur voor diagnose, afwezigheid van hersenzenuw uitval, kleinere tumorafmetingen, en afwezigheid van



doorgroei buiten de pons, necrose of ring-aankleuring op de diagnostische MRI. Deze studie bevestigt ook de eerder in de literatuur gemelde prognostische waarde van het hebben van een *HIST1H3B* mutatie voor een langere overleving. En tot slot blijkt uit deze studie dat (targeted) chemotherapie, in combinatie met radiotherapie, een langere overleving geeft in vergelijking met radiotherapie alleen.

**Hoofdstuk 16** geeft een algemene discussie over alle onderwerpen beschreven in dit proefschrift. De bevindingen van de afzonderlijke studies worden geplaatst in de context van recente ontwikkelingen op het gebied van DIPG. Implicaties voor toekomstig onderzoek en de huidige uitdagingen worden besproken.

**Hoofdstuk 17** bevat een Engelse samenvatting van het werk beschreven in dit proefschrift.

**Hoofdstuk 18** bevat een Nederlandse samenvatting van het werk beschreven in dit proefschrift.