

Gerandomiseerd fase 2-onderzoek waarbij de combinatie van PD-1-blokkade met kortdurende BRAF- en MEK-remming wordt vergeleken met anti-PD-1-monotherapie bij stadium IV-melanoompatiënten met een *BRAF-V600*-mutatie

Randomized phase II trial comparing pembrolizumab with intermittent/short-term dual MAPK pathway inhibition plus pembrolizumab in patients harboring the *BRAF-V600*-mutation (IMPemBra)

drs. E.A. Rozeman¹ en prof. dr. C.U. Blank-de Hoop²

Samenvatting

Door de komst van immuuntherapie en doelgerichte therapie is de behandeling voor patiënten met melanoom stadium IV revolutionair veranderd. Immuuntherapie met T-cel-checkpointremmers is de meest veelbelovende therapie met kans op langdurige respons. Anti-PD-1 is momenteel een van de eerste keuzes voor systemische therapie van patiënten met melanoom stadium IV in Nederland (WIN-O-advies 2016). Voor patiënten met een *BRAF-V600*-mutatie bestaat ook doelgerichte behandeling met een combinatie van een BRAF- en een MEK-remmer. Deze behandeling heeft een hogere kans op respons; dit is helaas vaak maar van korte duur (gemiddeld 10-12 maanden). De gedachte bestaat om deze behandelstrategieën te combineren om zo een grote kans op snelle respons te be-

werkstelligen door doelgerichte therapie en tegelijkertijd een langdurige klinische respons te verkrijgen door immuuntherapie. In preklinisch onderzoek wordt gezien dat behandeling met een BRAF- en MEK-remmer zorgt voor activatie van het immuunsysteem en synergistisch is in combinatie met PD-1-blokkade. Het is onduidelijk of BRAF+MEK-remming continu met PD-1-blokkade moet worden gecombineerd of dat intermitterende BRAF+MEK-remming beter is. Voor dit laatste schema spreekt de observatie dat de toename van BRAF+MEK-geïnduceerde T-celinfiltratie het sterkst is aan het begin van de behandeling. De IMPemBra-studie zal daarom een behandeling van intermitterende BRAF- en MEK-remming in combinatie met pembrolizumab vergelijken met pembrolizumab-monotherapie.

(*Ned Tijdschr Oncol* 2016;13:136-40)

¹arts-onderzoeker, ²internist-oncoloog, afdeling Medische Oncologie Disciplines en Immunologie, Nederlands Kanker Instituut-Antoni van Leeuwenhoek. Correspondentie graag richten aan mw. drs. E.A. Rozeman, arts-onderzoeker, afdeling Medische Oncologie, Nederlands Kanker Instituut-Antoni van Leeuwenhoek, Plesmanlaan 121, 1066 CX Amsterdam, tel.: 020 512 62 81, e-mailadres: l.rozeman@nki.nl en c.blank@nki.nl
Belangenconflict: C.U.B.: adviesrol BMS, GSK, MSD, Novartis, Pfizer, Roche, onderzoekssponsoring Novartis; E.A.R.: geen gemeld. Financiële ondersteuning: IMPemBra wordt gefinancierd door MSD.

Trefwoorden: *BRAF*-mutatie, doelgerichte therapie, immuuntherapie, melanoom, stadium IV

Keywords: *BRAF*-mutation, immunotherapy, melanoma, targeted therapy, stage IV

Summary

During the last years, treatment of stadium IV melanoma patients is revolutionary changed by the introduction of immunotherapy and targeted therapy. T-cell checkpoint inhibitors are the most promising therapy in late stage melanoma with a chance of durable remission. Treatment with anti-PD-1 is currently one of the first choice systemic therapies in the Netherlands (WIN-O advice 2016). For patients with a *BRAF-V600*-mutation, targeted therapy with the combination of a BRAF and MEK inhibitor can induce a higher response rate, but in most patients only of short duration. The rationale of combin-

ing these treatment regimens is to effectuate a high chance of rapid response by targeted therapy and at the same time achieve a durable response by immunotherapy. Preclinical data show that BRAF and MEK inhibition induce activation of the immune system. This raises the question whether inhibition of MAPK signaling will have a synergistic effect with pembrolizumab (anti-PD-1) and if this treatment schedule will be safe. The IMPemBra trial will address this question by comparing treatment with pembrolizumab with intermittent short-course BRAF and MEK inhibition in combination with pembrolizumab monotherapy.

Inleiding

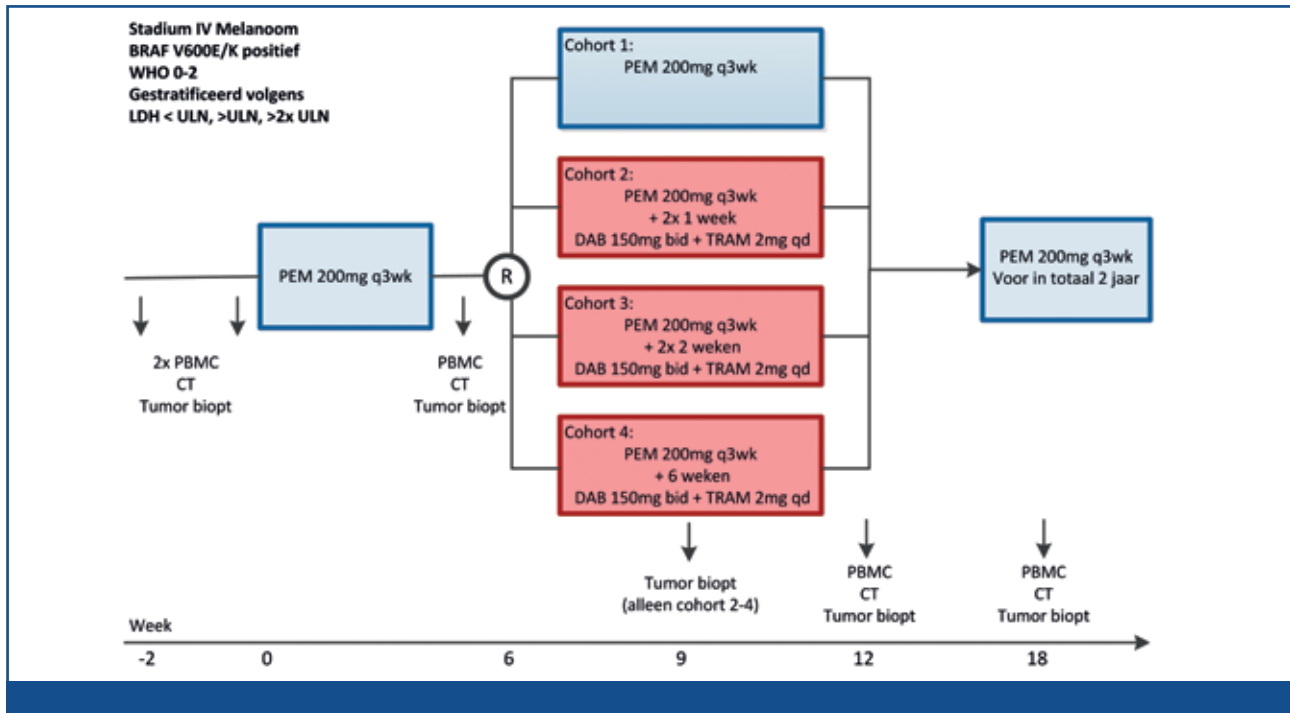
In Nederland werd in 2015 bij bijna 6.000 patiënten de diagnose melanoom gesteld. Er zijn in dat jaar meer dan 800 mensen overleden ten gevolge van een gemetastaseerd melanoom. De vijfjaarsoverleving van patiënten met een stadium I-tumor is bijna 100%, maar de prognose van patiënten met gemetastaseerde ziekte (stadium IV) is, maar de prognose van patiënten met gemetastaseerde ziekte (stadium IV) is met slechts 20% beduidend minder goed.¹ Bij DNA-onderzoek wordt bij 40-50% van de patiënten met een cutaan melanoom een *BRAF-V600*-mutatie gevonden. Deze mutatie zorgt voor continue activatie van MAPK-sigtaaltransductie.²

De laatste jaren is er veel vooruitgang geboekt op het gebied van behandeling van patiënten met gemetastaseerd (stadium IV) melanoom. Door de komst van immuuntherapieën en doelgerichte therapie voor patiënten met een *BRAF*-mutatie is de overleving van patiënten significant verbeterd.³⁻⁶

Behandeling met T-cel-checkpointremmers is momenteel een van de meest veelbelovende therapieën voor patiënten met stadium IV-melanoom met kans op langdurige respons.⁵ Ipilimumab, een monoklonaal antilichaam tegen CTLA-4, is de eerste T-cel-checkpointremmer die bij melanoompatiënten een verbetering van de totale overleving liet zien.^{7,8} Hoewel het totale responspercentage lager is in vergelijking met doelgerichte therapie, lijkt de kans op een langdurige respons groter.⁵ Behandeling met een antilichaam gericht tegen anti-PD-1, pembrolizumab of nivolumab is met een responskans van 30-45% effectiever en minder toxisch dan ipilimumab.^{6,9} Bij meer dan 90% van de patiënten is deze respons langdurig, echter de follow-up van deze patiënten behandeld in een gerandomiseerde fase 3-studie is nog erg kort.⁶ Van alle patiënten die zijn behandeld met anti-PD-1

in een fase 1-studie is na 3 jaar nog 41% in leven en de mediane responsduur was 23 maanden.¹⁰ De combinatiebehandeling van ipilimumab en nivolumab kent een nog hogere kans op respons van 57%. Dit gaat echter wel gepaard met een toename van toxiciteit; 55% van de patiënten ontwikkelde ernstige bijwerkingen, die overigens meestal goed te behandelen zijn.⁹ De combinatie is recentelijk goedgekeurd in de Verenigde Staten voor patiënten met stadium IV-melanoom, maar kan in Nederland nog niet worden voorgeschreven. Momenteel wordt door WIN-O geadviseerd om bij stadium IV-melanoompatiënten in goede klinische conditie te starten met anti-PD-1 (of anti-CTLA-4) als eerstelijns systemische therapie, zelfs als de *BRAF-V600*-mutatie is aangetoond.

De selectieve BRAF-remmers vemurafenib en dabrafenib verbeteren bij patiënten met een *BRAF-V600*-mutatie de progressievrije en totale overleving in vergelijking met dacarbazine in grote fase 3-studies. Bij 50% van de behandelde patiënten treedt echter al na een halfjaar progressie van ziekte op.^{11,12} Gecombineerde remming van de MAPK-sigtaaltransductie door het toevoegen van een MEK-remmer (trametinib of cobimetinib) zorgt voor een hogere responskans van 64-68% en een verdere verbetering van mediane progressievrije overleving naar gemiddeld 10-12 maanden.^{3,13} Daarnaast werden er niet meer bijwerkingen (behalve koorts) gezien dan bij behandeling met alleen een BRAF-remmer. Toch treedt ook bij de combinatiebehandeling bij de meerderheid van de patiënten uiteindelijk resistentie op en is na 3 jaar behandeling met dabrafenib en trametinib bij 80% progressie opgetreden.¹⁴ Concluderend wordt bij doelgerichte therapie een hoge kans op respons gezien, maar de kans op resistentie en terugval is groot. Immuuntherapie met T-cel-checkpointremmers kan een langdurige respons geven, maar dit wordt slechts bij



Figuur 1. Schematisch overzicht van de IMPemBra-studie.

ULN=bovengrens van normaalwaarde, PBMC=bloedafname voor perifere bloed 'monocytic' cellen, CT=CT-thorax abdomen (op indicatie wordt er ook van andere delen van het lichaam beeldvorming verricht), PEM=pembrolizumab, DAB=dabrafenib, TRAM=trametinib.

een deel van de patiënten bereikt. Dit verschil heeft geleid tot het idee om deze 2 behandelstrategieën te combineren met als doel een langdurige respons te bereiken bij een groot percentage van de patiënten.

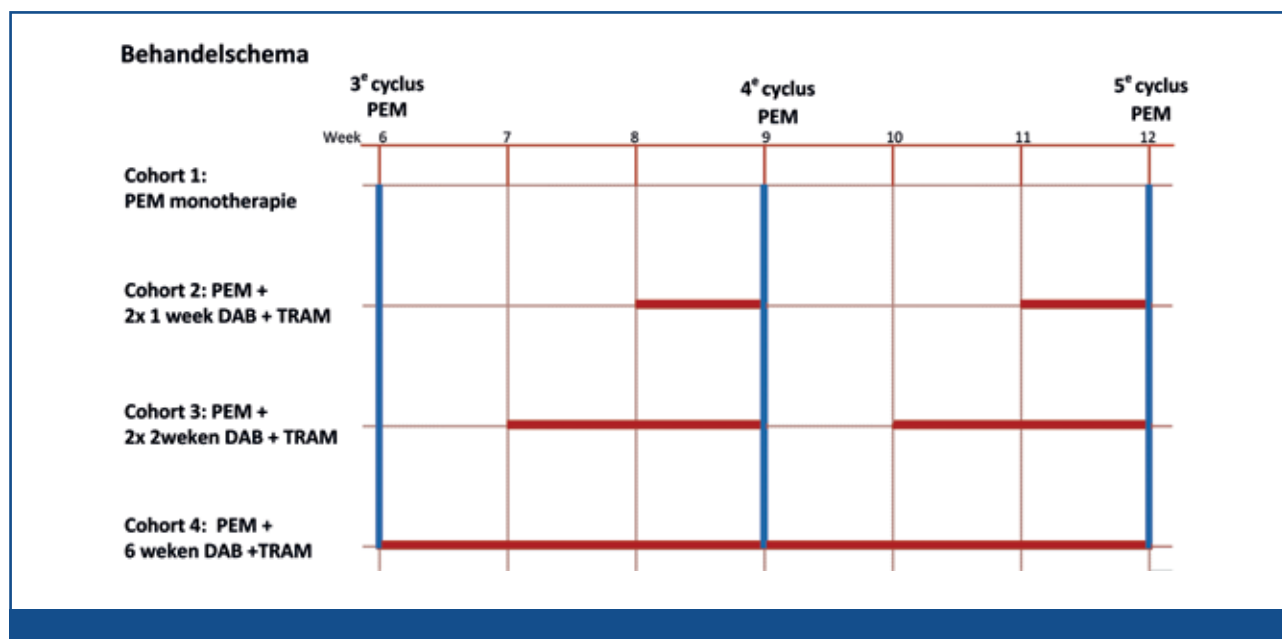
De responskans op immunotherapie hangt af van voldoende activatie van het immuunsysteem. In tumorbiopsen van patiënten die 2 weken zijn behandeld met BRAF- en MEK-remmers wordt een toename gezien van melanoomspecifieke antigenen en CD8-positieve T-cellen en een vermindering van immuunsysteemonderdrukkende cytokines.^{15,16} Na langdurige behandeling met BRAF-remming werd echter weer een daling van CD8-positieve T-cellen gezien.¹⁵ Deze afname van T-celinfiltratie lijkt al 4-6 weken na de start van de behandeling met BRAF- en MEK-remmers te beginnen.¹⁷ In de biopsen van patiënten werd ook een toename van PD-1- en PD-L1-expressie gezien; dit impliceert dat toevoeging van anti-PD-(L)1 mogelijk zorgt voor een betere respons.¹⁵

De eerste klinische studie waarbij immunotherapie en doelgerichte therapie werden gecombineerd, was een fase 1-studie met ipilimumab en vemurafenib. Deze studie werd vroegtijdig afgebroken door de grote mate van toxiciteit; voornamelijk verstoring van de leverenzymen en huidtoxiciteit.¹⁸ Dit zou verklaard kunnen worden door de toename van MAPK-signalering in lichaamscellen zonder BRAF-mutatie.¹⁹

Door een MEK-remmer toe te voegen, zou dit mogelijk kunnen worden verholpen. In een andere fase 1-studie, waarbij dabrafenib met of zonder trametinib werd gecombineerd met ipilimumab, werd minder hepatotoxiciteit gezien. De inclusie in de groep met alle 3 de middelen werd echter vroegtijdig gestopt vanwege gevallen van graad 3-colitis gecompliceerd door een darmperforatie bij 2 van de in totaal 7 behandelde patiënten met deze combinatie.²⁰ Aangezien anti-PD-1 minder kans geeft op graad 3-4-bijwerkingen (10-16%) dan ipilimumab (20-27%), wordt nu getracht dit met doelgerichte therapie te combineren.^{6,9} De eerste resultaten van de fase 1-studie met de combinatie van darvalumab (MEDI4736, een anti-PD-L1 antilichaam), dabrafenib en trametinib lieten zien dat deze combinatie wel veilig is en zorgt voor een toename van infiltratie van T-cellen in de tumor op dag 15.²¹ Aangezien in preklinische studies na langere behandeling met BRAF- en MEK-remmers een afname van T-celinfiltratie wordt gezien, bestaat de vraag of een continue combinatie van BRAF- en MEK-remming met PD-1-blokkade wel het meest optimale behandelingschema is.¹⁵

Doel van de studie

De IMPemBra-studie zal precies deze vraag beantwoorden. Deze 'single-center' fase 2-studie heeft als doel de



Figuur 2. Behandelschema week 6-12 IMPemBra-studie. PEM=pembrolizumab, DAB=dabrafenib, TRAM=trametinib.

veiligheid, haalbaarheid en immuunactiverende capaciteit van verschillende behandelingschema's bestaande uit intermitterende en continue doelgerichte therapie met de BRAF-remmer dabrafenib en MEK-remmer trametinib ten tijde van behandeling met het anti-PD-1-antilichaam pembrolizumab in kaart te brengen (zie *Figuur 1*). Het primaire eindpunt op het gebied van veiligheid en haalbaarheid is het optreden van het aantal bijwerkingen in de verschillende behandelgroepen. Hoewel is aangetoond dat continue behandeling met darvalumab, dabrafenib en trametinib veilig is, willen wij de veiligheid van deze nieuwe combinatie met pembrolizumab eerst in een kleine groep onderzoeken alvorens hier een grotere groep patiënten aan bloot te kunnen stellen. Secundaire eindpunten zijn de respons gemeten volgens RECIST 1.1 en progressievrije overleving berekend vanaf het moment van randomisatie.²²

Om de mate van immuunactivatie van de verschillende behandelingschema's in kaart te brengen, zal primair worden gekeken naar toename in het aantal geactiveerde T-cellen op verschillende momenten tijdens de behandelingen. Om dit te kunnen meten in opgezuiverde bloedcellen (perifere bloed 'monocytic' cellen; PBMC) zal meerdere keren 100 ml bloed worden afgenomen. Daarnaast zal op meerdere momenten een biopt van een tumorlokalisatie worden afgenomen om te kijken naar de verandering in infiltratie van immuuncellen (zie *Figuur 1* en *2*). Voor elke individuele patiënt zal de verandering in het aantal geactiveerde T-cellen in het bloed en infiltratie van T-cellen in de

tumor worden geanalyseerd. Ook willen we kijken of er een verschil is tussen de 4 cohorten.

In- en exclusiecriteria IMPemBra-studie

Stadium IV-melanoompatiënten met een BRAF-V600E- of BRAF-V600K-mutatie kunnen aan de studie deelnemen. Daarnaast dienen zij toestemming te geven voor de afname van meerdere bipten en bloedmonsters. Patiënten mogen niet eerder zijn behandeld met anti-CTLA4/PD-1/PD-L1-antilichamen. Verder mogen zij geen auto-immuunziekten of actieve hiv, tbc of hepatitisinfectie hebben. Patiënten met onbehandelde of symptomatische hersenmetastasen worden uitgesloten van deelname. Aan deze studie mogen in totaal 32 patiënten deelnemen.

Opzet van de studie

Alle patiënten zullen starten met 2 kuren pembrolizumab 200 mg om de 3 weken. Na 6 weken worden zij gerandomiseerd over 4 verschillende behandelgroepen. De patiënten in cohort 1 zullen de standaardbehandeling met pembrolizumab-monotherapie continueren gedurende 2 jaar. De patiënten in de overige behandelgroepen zullen naast pembrolizumab ook worden behandeld met intermitterend dabrafenib (150 mg 2dd) en trametinib (2 mg 1dd) gedurende tweemaal een week (cohort 2), tweemaal 2 weken (cohort 3) of continu gedurende 6 weken (cohort 4). Alle patiënten zullen daarna de behandeling met pembrolizumab 200 mg om de 3 weken continueren voor 2 jaar (zie *Figuur 1*).

Om deze groepen goed te kunnen vergelijken, zal bij randomisatie worden gestratificeerd op basis van het LDH voor aanvang, aangezien dit de sterkste biomarker voor respons op immuuntherapie is.^{23,24}

Wij hopen deze 32 patiënten binnen anderhalf jaar te includeren. De IMPemBra-studie is goedgekeurd door de medisch-ethische commissie van het Antoni van Leeuwenhoek. De inclusie is gestart sinds 15 maart 2016. Het Antoni van Leeuwenhoek is het enige centrum waar patiënten aan deze studie kunnen deelnemen. Voor verwijzing van stadium IV-melanoompatiënten met een BRAF-V600-mutatie kunt u contact met ons opnemen.

Conclusie

De behandeling voor patiënten met een stadium IV-melanoom is in de afgelopen jaren erg verbeterd door de introductie van immuuntherapie en doelgerichte therapie. Op basis van preklinische studies zijn er aanwijzingen dat kortdurende remming van de MAPK-siginaaltransductie activatie van het immuunsysteem kan induceren; dit impliceert een mogelijk synergistische werking met immuuntherapie. In deze studie willen wij analyseren wat de mate van immuunactivatie is van verschillende behandelingschema's met kortdurende BRAF- en MEK-remming in combinatie met pembrolizumab. Daarnaast observeren we of deze combinatiebehandeling veilig en haalbaar is.

Referenties

1. Incidentie, sterfte en overleving melanoom. Te raadplegen via www.cijfersoverkanker.nl.
2. Eggermont AM, Spatz A, Robert C. Cutaneous melanoma. *Lancet* 2014;383(9919):816-27.
3. Robert C, Karaszewska B, Schachter J, et al. Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib. *N Engl J Med* 2015;372(1):30-9.
4. Larkin J, Ascierto PA, Dreno B, et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med* 2014;371(20):1867-76.
5. Schadendorf D, Hodi FS, Robert C, et al. Pooled analysis of long-term survival data from phase II and phase III trials of ipilimumab in unresectable or metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2015;33(17):1889-94.
6. Robert C, Schachter J, Long GV, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med* 2015;372(26):2521-32.
7. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2011;364(26):2517-26.
8. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363(8):711-23.
9. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015;373(1):23-34.
10. Hodi FS, Sznol M, Kluger H, et al. Long-term survival of ipilimumab-naive patients (pts) with advanced melanoma (MEL) treated with nivolumab (anti-PD-1, BMS-936558, ONO-4538) in a phase I trial. *J Clin Oncol* 2014;32:5s (suppl;abstr 9002).
11. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 2011;364(26):2507-16.
12. Hauschild A, Grob JJ, Demidov LV, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2012;380(9839):358-65.
13. Larkin JM, Yan Y, McArthur G, et al. Update of progression-free survival (PFS) and correlative biomarker analysis from coBRIM: phase III study of cobimetinib (cobi) plus vemurafenib (vem) in advanced BRAF-mutated melanoma. *J Clin Oncol* 2015;33(suppl; abstr 9006).
14. Long GV, Weber JS, Infante JR, et al. Overall survival and durable responses in patients with BRAF V600-mutant metastatic melanoma receiving dabrafenib combined with trametinib. *J Clin Oncol* 2016;34(8):871-8.
15. Frederick DT, Piris A, Cogdill AP, et al. BRAF inhibition is associated with enhanced melanoma antigen expression and a more favorable tumor microenvironment in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2013;19(5):1225-31.
16. Wilmott JS, Long GV, Howle JR, et al. Selective BRAF inhibitors induce marked T-cell infiltration into human metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2012;18(5):1386-94.
17. Blank C, et al. Manuscript in preparation.
18. Ribas A, Hodi FS, Callahan M, et al. Hepatotoxicity with combination of vemurafenib and ipilimumab. *N Engl J Med* 2013;368(14):1365-6.
19. Su F, Viros A, Milagre C, et al. RAS mutations in cutaneous squamous-cell carcinomas in patients treated with BRAF inhibitors. *N Engl J Med* 2012;366(3):207-15.
20. Puzanov I. Combining targeted and immunotherapy: BRAF inhibitor dabrafenib (D) ± the MEK inhibitor trametinib (T) in combination with ipilimumab (Ipi) for V600E/K mutation-positive unresectable or metastatic melanoma (MM). *J Transl Med* 2015;13(Suppl 1):K8.
21. Ribas A, Butler M, Lutzky J, et al. Phase I study combining anti-PD-L1 (MEDI4736) with BRAF (dabrafenib) and/or MEK (trametinib) inhibitors in advanced melanoma. *J Clin Oncol* 2015;33(suppl;abstr 3003).
22. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009;45(2):228-47.
23. Martens A, Wistuba-Hamprecht K, Geukes Foppen MH, et al. Baseline peripheral blood biomarkers associated with clinical outcome of advanced melanoma patients treated with ipilimumab. *Clin Cancer Res* Jan 19 2016 [Epub ahead of print].
24. Diem S, Kasenda B, Spain L, et al. Serum lactate dehydrogenase as an early marker for outcome in patients treated with anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma. *Br J Cancer* 2016;114(3):256-61.

Ontvangen 2 maart 2016, geaccepteerd 20 april 2016.

Nieuwe ontwikkelingen binnen de biochemische diagnostiek naar het feochromocytoom

Different strategies in the biochemical diagnosis of pheochromocytoma

T.E. Osinga

Samenvatting

Feochromocytomen zijn zeldzame neuro-endocriene tumoren die catecholamines maken en uitscheiden. De afbraakproducten hiervan kunnen worden gemeten in het plasma en de urine als metanefrine, normetanefrine en 3-methoxytyramine. Op 3 februari 2016 promoveerde mw. T.E. Osinga aan de Rijksuniversiteit Groningen. Haar proefschrift is gericht op verbetering van de diagnostiek naar deze zeldzame tumoren door aanpassingen van de bestaande methoden en het ontwikkelen van nieuwe technieken.

(*Ned Tijdschr Oncol* 2016;13:141-3)

Summary

Pheochromocytoma are rare neuroendocrine tumors that are known for their catecholamine synthesis and secretion. The metabolic end-products can be measured in plasma and urine as metanephrine, normetanephrine and 3-methoxytyramine. On the 3rd of February 2016, T.E. Osinga successfully defended her dissertation at the University of Groningen. In the thesis, improvements for the current diagnostic methods for pheochromocytoma are described. In addition, new diagnostic tests are proposed to improve the diagnostic procedure for these rare tumors.

Inleiding

Feochromocytomen zijn zeldzame neuroendocriene tumoren die ontstaan uit de chromaffine cellen van het bijniemerg.¹ De gemiddelde jaarlijkse incidentie van feochromocytomen in Amerika is 1,35 per 100.000 volwassenen per jaar.² De incidentie in Nederland is onbekend. Als de tumor in een paraganglion ontstaat, dan wordt deze een paraganglioom genoemd. Feochromocytomen en paragangliomen kunnen spontaan ontstaan of als onderdeel van een genetisch tumorsyndroom. Bij ongeveer 40% van de patiënten met een feochromocytoom of paraganglioom wordt een genmutatie vastgesteld in één van de nu 21 bekende genen.⁵

De afbraakproducten van catecholamines, metanefrine (MN), normetanefrine (NMN) en 3-methoxytyramine (3-MT), kunnen worden gemeten in urine en

plasma en zijn verhoogd bij patiënten met een feochromocytoom of sympathisch paraganglioom. Een verhoging van de MN- en NMN-concentratie in plasma heeft een hoge sensitiviteit (98,6%) en specificiteit (89,3%) voor het aantonen van een feochromocytoom.³ Deze meting kan echter worden beïnvloed door pre-analytische factoren zoals de houding tijdens afname, bepaalde medicamenten en een adrenalectomie. Om het aantal fout-positieve uitslagen te beperken, wordt geadviseerd om patiënten 20-30 minuten te laten rusten voor het meten van plasmametanefrines.⁴

Evaluatie en optimalisering van de huidige diagnostiek naar feochromocytomen

Follow-up is erg belangrijk bij patiënten die een adrenalectomie hebben ondergaan in verband met een fe-

Correspondentie graag richten aan mw. T.E. Osinga, arts-onderzoeker, Faculteit Medische Wetenschappen/UMCG, Antonius Deusinglaan 1, 9713 AV, Groningen, tel.: 050 363 31 63, e-mailadres: t.osinga@umcg.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: feochromocytomen, metanefrines, paragangliomen

Keywords: metanephrines, paraganglioma, pheochromocytoma

ochromocytoom. Met name bij een genetische mutatie is er een verhoogd risico op het krijgen van een recidief tumor. Omdat onbekend was in hoeverre enkelzijdige of dubbelzijdige adrenalectomie de plasma- en urinemetanefrineconcentraties beïnvloeden, werd bij deze patiëntengroep onderzocht of de uitslagen verschilden van de referentiewaarden van gezonde mensen met 2 bijnieren. De plasma- en urine-MN-concentraties van 70 patiënten met een unilaterale adrenalectomie en 24 patiënten met een dubbelzijdige adrenalectomie na de behandeling vanwege een feochromocytoom bleken significant lager te zijn vergeleken met 120 mensen met 2 bijnieren. Daarnaast waren plasma- en urine-NMN-concentraties significant hoger bij mensen na unilaterale of bilaterale adrenalectomie in vergelijking met mensen met 2 bijnieren. Deze verandering van MN- en NMN-concentraties was langdurig, tot in ieder geval 5 jaar postoperatief. De verhoogde concentraties van NMN postoperatief is waarschijnlijk een compensatie-effect van norepinefrine door verminderde concentraties van epinefrine. De conclusie van dit onderzoek is dat de plasma- en urine-MN- en NMN-referentiewaarden moeten worden aangepast bij patiënten met maar 1 bijnier of patiënten zonder bijnieren. Dit om te voorkomen dat licht verhoogde NMN-uitslagen postoperatief als tumorrecidief worden geïnterpreteerd. Dit zou onnodige beeldvorming kunnen voorkomen. Daarentegen kunnen MN-waarden in de normale range al verhoogd zijn voor patiënten met 1 of geen bijnieren en dus al wijzen op een tumorrecidief.⁶

Nieuwe diagnostische technieken naar het feochromocytoom

Zoals eerder beschreven is de bepaling van metanefrines erg gevoelig voor het vaststellen van een feochromocytoom. De uitkomst is echter ook houdingsafhankelijk, waardoor patiënten op de prikpost 20-30 minuten in een liggende positie moeten verblijven voor de bloedafname. Als metanefrines ook in speeksel kunnen worden bepaald, zouden patiënten thuis liggend het speekselmonster kunnen afnemen en kunnen meenemen naar de polikliniek. In een pilotstudie met 10 gezonde personen werden de MN-, NMN- en 3-MT-concentraties in plasma vergeleken met de concentraties in speeksel. De monsters zijn vervolgens geanalyseerd met de vloeistofchromatografie met tandemmassaspectrometrie (LC-MS/MS)-techniek. LC-MS/MS is erg sensitief in het detecteren van stoffen in het bloed, omdat er zowel op basis van

de molecuulmassa als op basis van de massa van 2 producten kan worden gekwantificeerd (het molecuul wordt kapotgeschoten en de reststoffen hiervan worden ook gemeten). In de studie is ook gekeken naar het effect van een aantal pre-analytische factoren zoals het gebruiken van een wattenstaafje, de houding tijdens afname en eten op de speekselmetanefrineconcentratie. De resultaten van deze studie laten zien dat metanefrineconcentraties met voldoende precisie te meten zijn in speeksel.⁷

Dopamineproductie bij hoofd-halsparagangliomen

Hoofd-halsparagangliomen zijn paragangliomen die uitgaan van de parasymphatische paraganglia in het hoofd-halsgebied. In tegenstelling tot de sympathische paragangliomen en de feochromocytomen wordt maar in 19,4-28% van de hoofd-halsparagangliomen een verhoogde dopamineproductie gevonden.^{8,9} Dit uit zich meestal in een verhoging van het plasma-3-MT. Omdat dopamine ook wordt opgenomen in bloedplaatjes, zou deze dopamineconcentratie een nieuwe marker kunnen zijn om dopamineproductie bij patiënten met een hoofd-halsparaganglioom vast te stellen. De concentratie van dopamine in bloedplaatjes en plasma-3-MT werd gelijktijdig gemeten bij 36 patiënten met een hoofd-halsparaganglioom en vergeleken met concentraties gemeten in een gezonde populatie. De plasma-3-MT-concentratie was niet verschillend tussen beide groepen. Zes (16,7%) patiënten met een hoofd-halsparaganglioom hadden een verhoogde dopamineconcentratie in bloedplaatjes, terwijl maar bij 3 patiënten (8,3%) een verhoogde plasma-3-MT-concentratie werd vastgesteld. Dit onderzoek heeft aangetoond dat de dopamineconcentratie in bloedplaatjes verhoogd is bij patiënten met een hoofd-halsparaganglioom vergeleken met gezonde controles. Mogelijk is de dopamineconcentratie in bloedplaatjes een nieuwe biomarker voor dopamineproducerende paragangliomen.¹⁰

Conclusie

De studies beschreven in dit proefschrift hebben bijgedragen aan het verbeteren van de diagnostiek naar feochromocytomen en paragangliomen. Gebruik van speeksel in plaats van bloedmonsters maakt het diagnostische proces voor deze patiënten gemakkelijker. Toekomstig vervolgonderzoek bij grotere groepen patiënten en gezonde controles moet de plaats van de bepaling van metanefrines in speeksel voor de klini-

sche praktijk uitwijzen. Op dit moment worden in samenwerking met het Radboudumc in Nijmegen en de National Institutes of Health in Bethesda Amerika patiënten en gezonde controles geïncludeerd in een vervolgstudie.

Referenties

1. Kimura N, Chetty R, Capella C, et al. Extra-adrenal paraganglioma: carotid body, jugulotympanic, vagal, laryngeal, aortico-pulmonary. DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C, eds. World Health Organization Classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Lyon: IARC Press 2004;159-61.
2. Beard CM, Sheps SG, Kurland LT, et al. Occurrence of pheochromocytoma in Rochester, Minnesota, 1950 through 1979. *Mayo Clin Proc* 1983;58:802-4.
3. Lenders JW, Pacak K, Walther MM, et al. Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: which test is best? *JAMA* 2002;287:1427-34.
4. Lenders JW, Duh QY, Eisenhofer G, et al. Pheochromocytoma and paraganglioma: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:1915-42.
5. Dahia PL. Pheochromocytoma and paraganglioma pathogenesis: learning from genetic heterogeneity. *Nat Rev Cancer* 2014;14:108-19.
6. Osinga TE, Van den Eijnden MH, Kema IP, et al. Unilateral and bilateral adrenalectomy for pheochromocytoma requires adjustment of urinary and plasma metanephrine reference ranges. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:1076-83.
7. Osinga TE, Van der Horst-Schrivers AN, van Faassen M, et al. Mass spectrometric quantification of salivary metanephrines-A study in healthy subjects. *Clin Biochem* 2016 [Epub ahead of print].
8. Van der Horst-Schrivers AN, Osinga TE, Kema IP, et al. Dopamine excess in patients with head and neck paragangliomas. *Anticancer Res* 2010;30:5153-8.
9. Van Duinen N, Steenvoorden D, Kema IP, et al. Increased urinary excretion of 3-methoxytyramine in patients with head and neck paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:209-14.
10. Osinga TE, Van der Horst-Schrivers AN, Van Faassen M, et al. Dopamine concentration in blood platelets is elevated in patients with head and neck paragangliomas. *Clin Chem Lab Med* 2015 [Epub ahead of print].

Ontvangen 16 maart 2016, geaccepteerd 18 april 2016.