

Aus der Klinik für Nuklearmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Heterogenität der Somatostatinrezeptor-Expression als
prognostischer und prädiktiver Faktor für Patienten mit
progressiven neuroendokrinen Tumoren unter
Peptidradiorezeptor-Therapie

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Josephine Graf

aus München

Datum der Promotion: 25. November 2022

Inhaltsangabe

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	3
Zusammenfassung auf Deutsch.....	4
Abstract in English	5
Manteltext	7
1. Einleitung - Darstellung des Forschungsstandes.....	7
2. Methodik.....	12
2.1. Ein- und Ausschlusskriterien	12
2.2. Erstellung der Datenbank.....	14
2.3. Durchführung der PRRT und Bildgebung bei NET Patienten der Charité.....	15
2.4. Erhebung der Qualität der SSTR-Expression.....	17
2.5. Statistische Analyse	20
3. Ergebnisse	21
3.1. Patientencharakteristika	21
3.2. Kaplan-Meier Analyse des Gesamtüberleben (OS)	23
3.3. Kaplan-Meier Analyse der Zeit bis zur Progression (TTP)	29
3.4. Multivariate Analyse für OS und TTP	29
3.5. Qualität der SSTR-Expression vs. Grad des Tumors.....	29
4. Diskussion	35
4.1. Interpretation der Ergebnisse.....	35
4.2. Klinische Anwendungen.....	38
4.3. Limitationen und weiterführende wissenschaftliche Fragestellungen	39
4.4. Schlussfolgerung	42
Literaturverzeichnis	43
Eidesstattliche Versicherung.....	49
Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation	50
Ausarbeitung einer Forschungsfrage	
Stellung eines Ethikantrags	
Erstellung der Datenbank in Excel und SPSS	
Auswertung der PET-CT Bilder	
Statistische Analyse	
Verfassung des Manuskripts	
Veröffentlichung und Revision	
Auszug aus der Journal Summary List	51
Druckexemplar der ausgewählten Publikation	55
Lebenslauf	70
Komplette Publikationsliste.....	71
Danksagung	72

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Alle Abbildungen und Tabellen sind adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

Abbildung 1: Grafische Darstellung des Studiendesigns	13
Abbildung 2 Beispiel einer PET/CT-Bildgebung eines Patienten mit heterogener SSTR-Expression.....	19
Abbildung 3 Häufigkeitsverteilung der Lokalisation des Primärtumors	21
Abbildung 4 Häufigkeitsverteilung der Therapielinie.....	22
Abbildung 5 Häufigkeitsverteilung der Qualität der SSTR-Expression	23
Abbildung 6: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens (OS) für die gesamte Studienkohorte.....	27
Abbildung 7: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens (OS) unterschieden je nach Qualität der SSTR-Expression.....	28
Abbildung 8: Kaplan-Meier-Kurve der Zeit bis zur Progression (TTP) für die gesamte Studienkohorte.....	31
Abbildung 9: Kaplan-Meier-Kurve von Zeit bis zur Progression (TTP), aufgeteilt je nach Qualität der SSTR-Expression.....	32
Tabelle 1: Patientencharakteristika und die Statistische Analyse des Gesamtüberlebens (OS)	25
Tabelle 2: Bildcharakteristika und Statistische Analyse des Gesamtüberleben (OS)....	26
Tabelle 3 Patientencharakteristika und statistische Analyse von Zeit bis zur Progression (TTP).....	30
Tabelle 4: Bildcharakteristika und Statistische Analyse der Zeit bis zur Progression (TTP).....	33
Tabelle 5: Vortherapien und deren Häufigkeit	34

Zusammenfassung auf Deutsch

Ein wichtiges Standbein der Therapie bei Patienten mit progressiven Neuroendokrinen Tumoren (NET) ist die nuklearmedizinische Peptidrezeptor-vermittelte Radionuklid-Therapie (PRRT).

Bei Zellen von Neuroendokrinen Tumoren sind Somatostatinrezeptoren (SSTR) überexprimiert. Diese werden bei der PRRT durch ein radioaktiv markiertes Somatostatinanalogon ($[^{177}\text{Lu}]$ DOTA-TOC oder $[^{177}\text{Lu}]$ DOTA-TATE) zielgerichtet adressiert.

Die Expression von SSTR auf den Zellen von NET kann bei jedem Patienten sehr unterschiedlich sein, sogar innerhalb der Metastasen eines einzelnen Patienten kann es Unterschiede in der SSTR-Expression geben. Das Ziel unserer Studie war es, den Einfluss der Qualität der intrametastatischen SSTR-Expression auf das Gesamtüberleben (Overall Survival – OS) und die Zeit bis zur Progression (Time to Progression - TTP) von Patienten mit NET unter PRRT zu beurteilen.

Die Studie ist eine retrospektive Datenanalyse von 65 NET- Patienten (25 Frauen und 40 Männer (65 ± 11 Jahre alt)), die mit einer PRRT behandelt wurden. Alle Patienten hatten progressive Grad 1 oder Grad 2 gastroenteropankreatische NET oder NET der Lunge.

Als Maß für die Heterogenität der SSTR-Expression haben wir auf $[^{68}\text{Ga}]$ DOTA-TATE oder $[^{68}\text{Ga}]$ DOTA-TOC PET / CT (PET) die Qualität der SSTR-Expression visuell ausgewertet und dementsprechend die Patienten entweder der Gruppe mit homogener oder heterogener Qualität der SSTR-Expression zugeteilt. Dazu wurden alle relevanten klinischen Parameter in einer Datenbank erfasst, die die Grundlage für die Studie darstellt.

Die Analyse ergab eine heterogene Qualität der SSTR-Expression bei 28 (44,4%) Patienten. 35 (55,6%) Patienten zeigten eine homogene Qualität der SSTR-Expression. Das Mediane Gesamtüberleben (Overall Survival, OS) der gesamten Studienkohorte wurde nicht erreicht. Die 24-Monats-Überlebensrate war 83%.

Einen Einfluss auf OS hatten in den univariaten Analysen das Vorhandensein eines Karzinoidsyndrom sowie das Vorhandensein eines Karzinoid-Herzsyndroms und die Qualität der SSTR-Expression. Patienten mit heterogener SSTR-Expression hatten ein signifikant niedrigeres Gesamtüberleben ($p = 0,01$).

Die mediane Zeit bis zur Progression (Time to Progression, TTP) war 40 Monate für die gesamte Studienkohorte. In den univariaten Analysen für TTP zeigte sich die Qualität der SSTR-Expression als einziger signifikanter Faktor ($p = 0,013$). Patienten mit heterogener SSTR-Expression auf Zielläsionen hatten eine mediane TTP von nur 26 Monaten vs. 54 Monate bei homogener SSTR-Expression.

Sowohl für TTP als auch für OS zeigte sich in der multivariaten Analyse nur die Qualität der SSTR-Expression als signifikanter Prognosefaktor (OS: $p = 0,04$; HR = 3,68, TTP: $p = 0,03$; HR = 3,09).

Wir schließen daraus, dass die Qualität der SSTR-Expression ein wichtiger prognostischer und prädiktiver Faktor mit Auswirkungen auf OS und TTP bei NET Patienten unter PRRT ist. Bei therapeutischen Entscheidungen sollte ein besonderes Augenmerk auf der Qualität der SSTR-Expression liegen. In zukünftigen Studien sollte die Qualität der SSTR-Expression erfasst werden.

Abstract in English

Peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) is an important therapeutic option for patients with progressive neuroendocrine tumours (NET).

The neuroendocrine tumour cells show high expression of somatostatin receptors (SSTR). The SSTRs are targeted by radiolabeled somatostatin analogue like [^{177}Lu] DOTA-TOC or [^{177}Lu] DOTA-TATE).

The intensity of expression of SSTR on the cells of NET can be very different in each patient; even within the metastases of a single patient there can be differences in SSTR expression. The aim of our study was to assess the impact of the quality of intrametastatic SSTR expression on overall survival (OS) and time to progression (TTP) of patients with NET undergoing PRRT. In doing so, we aimed to provide more clarity in predicting treatment response in order to better select patients for PRRT.

The study is a retrospective data analysis of 65 NET patients (25 women and 40 men (65 ± 11 years old)) treated with PRRT. All patients had progressive grade 1 or grade 2 gastroenteropancreatic NET or NET of the lung.

As a measure of heterogeneity of SSTR expression, we visually assessed the quality of SSTR expression on [^{68}Ga] DOTA-TATE or [^{68}Ga] DOTA-TOC PET/CT (PET) and accordingly assigned patients to either the group with homogeneous or heterogeneous

quality of SSTR expression. In addition, relevant clinical parameters were recorded in a database.

The analysis revealed heterogeneous quality of SSTR expression in 28 (44.4%) patients. 35 (55.6%) patients showed homogeneous quality of SSTR expression.

Median overall survival (OS) of the entire study cohort was not reached. The 24-month survival rate was 83%.

In univariate analyses the presence of carcinoid syndrome and the presence of carcinoid heart syndrome, and also the quality of SSTR expression had a significant influence on OS. Patients with heterogeneous SSTR expression had significantly lower overall survival ($p = 0.01$).

The median time to progression (TTP) was 40 months for the entire study cohort. In univariate analyses for TTP, quality of SSTR expression was the only significant factor ($p = 0.013$). Patients with heterogeneous SSTR expression on target lesions had a median TTP of only 26 months vs. 54 months with homogeneous SSTR expression.

For both TTP, and OS, multivariate analysis revealed quality of SSTR expression as the only significant prognostic factor (OS: $p = 0.04$; HR = 3.68, TTP: $p = 0.03$; HR = 3.09).

We conclude that the quality of SSTR expression is an important prognostic and predictive factor affecting OS and TTP in NET patients undergoing PRRT. Therapeutic decisions should pay special attention to the quality of SSTR expression, and future studies should capture and explore the quality of SSTR expression.

Manteltext

1. Einleitung - Darstellung des Forschungsstandes

Krebserkrankungen stellen eine existentielle Belastung für betroffene Patienten und deren Angehörigen dar und sind eine immense Herausforderung für deren Behandler. Auch wenn die moderne Medizin die Diagnostik- und Therapiemöglichkeiten mit hoher Geschwindigkeit stetig weiterentwickelt und verbessert, ist das Ziel einer vollständigen Remission bei den meisten Krebserkrankungen noch nicht zu erreichen.

Die Herausforderung, alle malignen Zellen zu töten, macht bei vielen Entitäten immer noch den Einsatz von hochtoxischen, nebenwirkungsreichen Therapien notwendig, ohne dass diese zielgerichtet gegen die entarteten Zellen wirken. Dies erhöht den Leidensdruck der Patienten enorm.

So ist es das Ziel der modernen Krebstherapie, jedem Patienten aus der Vielzahl der therapeutischen Möglichkeiten eine personalisierte, individuell angepasste Therapie zukommen zu lassen. Diese sollte bei einer größtmöglichen Erfolgsrate die Nebenwirkungen der Therapie bestmöglich auf ein Minimum beschränken.

Die Nuklearmedizin hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen und kann hier mit zielgerichteten Therapien mit vergleichsweise geringer Toxizität einen Ansatz bieten (1). Während viele mit der Nuklearmedizin vorwiegend die Radioiodtherapie zur Behandlung von Schilddrüsenerkrankungen verbinden, gewinnen auch zunehmend andere Therapien an Bedeutung (1).

So kann die Nuklearmedizin mit der PRRT einen wichtigen Beitrag zu Behandlung von Neuroendokrinen Neoplasien leisten. Die PRRT ermöglicht eine effektive Therapie mit vergleichsweise wenig Toxizität (2).

Neuroendokrine Neoplasien (NEN) sind eine sehr heterogene, seltene Tumorart, die in die weniger aggressiven Neuroendokrinen Tumore (NET) mit insgesamt noch guter Differenzierung und die aggressiven Neuroendokrinen Karzinome (NEC) mit schlechter Differenzierung unterteilt wird (3). Die häufigsten Lokalisationen des Primärtumors sind das gastroenteropankreatische (GEP) System und die Lunge (4), NEN können allerdings im gesamten Körper auftreten (4). Die Ursprungszellen von NEN sind neuroendokrine Zellen.

Neben Symptomen einer konsumierenden, raumfordernden Tumorerkrankung können funktionell aktive NETs eine Vielzahl an Hormonen freisetzen, die zusätzlich zu endokrinen Symptomen führen können (4, 5). Ein häufiges Beispiel ist das Karzinoidsyndrom, das durch Serotoninausschüttung und vasoaktive Substanzen verursacht wird. Dieses zeigt sich symptomatisch mit Durchfällen, abdominellen Krämpfen sowie einer Flush-Symptomatik (4). Als schwerwiegende Folge kann das Karzinoidsyndrom eine Karzinoid-Herzerkrankung verursachen, die sich in Endokardfibrosierung und Symptomen einer Herzinsuffizienz äußert (4).

Die WHO klassifiziert NETs entsprechend ihres Ki67 Index (3). Tumoren mit einem Ki67-Index von weniger oder gleich 2% werden Grad 1 zugeordnet, Grad 2 entspricht Tumoren mit Ki67-Indizes zwischen 3% und 20%. Grad 3-Tumoren haben Ki67-Indizes von über 20% (3).

Aufgrund einiger Studien, die gezeigt haben, dass der Ki67 Index nicht nur prognostischen, sondern auch prädiktiven Wert hat, basieren die Therapieempfehlungen von Internationalen Leitlinien, wie z.B. die der European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS) oder des National Comprehensive Cancer Networks (NCCN), hauptsächlich auf dem Ki67 Index (6, 7).

Ein Nachteil der Gradeinteilung von NET mit Hilfe des Ki67 Index ist es jedoch, dass diese Methode einem Stichprobenfehler unterliegt. Je nach Ort der entnommenen Probe kann die Gradeinteilung variieren, da der Ki67 Index aufgrund von unterschiedlichen genetischen Eigenschaften und Differenzierung der Zellen nicht im gesamten Tumor bzw. dessen Metastasen gleichmäßig ist (8, 9).

Diese große Variabilität von Geno- und Phänotyp innerhalb einer Metastase und zwischen Metastasen kann auch teilweise erklären, warum eine Heilung bei Patienten mit systemisch metastasierten NET selten möglich ist (10, 11).

Die einzige kurative Therapieoption für NEN ist die chirurgische oder endoskopische Entfernung des Tumors im Gesunden (12, 13). Häufig sind NEN jedoch bereits zum Diagnosezeitpunkt metastasiert, so dass nur noch Therapeutika zur Symptom- und Wachstumskontrolle in Frage kommen. Die Behandlungsmöglichkeiten für metastasierte NEN und neuroendokrine Tumorerkrankungen sind zum Teil sehr komplex und überwiegend palliativ, aber oft mit direktem Einfluss auf die Lebensqualität der Patienten. Es ist somit unabdingbar, die Therapieentscheidungen im Rahmen einer interdisziplinären Tumorkonferenz zu treffen (12). Die deutsche Leitlinie von 2018 „S2k-

Leitlinie Neuroendokrine Tumore“ empfiehlt, in Einklang mit den ENETs Guidelines, folgende therapeutischen Optionen:

Als medikamentöse Therapien kommen Somatostatin-Analoga, Interferon-alpha, Chemotherapeutika (z.B. Streptozotocin und 5-Fluorouracil oder Capecitabin/Temozolomid), sowie zielgerichtete Medikamente (Sunitinib und Everolimus) in Frage. Als interventionell-radiologische Verfahren können die transarterielle Embolisation (TAE), transarterielle Chemoembolisation (TACE) und Radioembolisation (RE) angewandt werden (6, 12). Eine Therapiemöglichkeit ist außerdem die PRRT, ein nuklearmedizinisches Verfahren, das im nächsten Absatz näher beschrieben wird (6, 12).

Die Peptidradiorrezeptortherapie (PRRT) ist vor allem in palliativen Situationen ein wichtiges Standbein der Therapie von NET (12).

Sie kann auf NET überexprimierte Somatostatin-Rezeptoren (SSTR) (14) direkt adressieren: ein intravenös eingebrachtes Somatostatinanalogon (z.B. Octreotid), gekoppelt an einen Beta-Strahler (z.B. Lutetium-177), bindet an den SSTR und wirkt somit zielgerichtet an den Tumorzellen (15).

Seit über 20 Jahren zeigt die PRRT in klinischen Studien vielversprechende Ergebnisse bei Patienten mit SSTR exprimierenden NEN (16-25). Als erste prospektive Phase-3 Studie zeigte die 2017 veröffentlichte Netter-1-Studie klar die Überlegenheit von [¹⁷⁷Lu] DOTA-TATE gegenüber der Kontrollgruppe mit hochdosiertem Octreotid bei NET des Jejunum, Ileum und proximalen Kolon (2). Basierend auf diesen guten Ergebnissen empfehlen die Europäische Gesellschaft für neuroendokrine Tumoren (ENETS), die Europäische Gesellschaft für Medizinische Onkologie (ESMO), die Deutsche Leitlinie für Neuroendokrine Tumore sowie die Nordamerikanische Gesellschaft für neuroendokrine Tumoren (NANETS) die PRRT als Zweit- oder Drittlinientherapie für progressive SSTR-positive metastasierte oder nicht operable NET (12, 26-29). Auch in der Klinik für Nuklearmedizin der Charité, Universitätsmedizin Berlin, wird die PRRT seit Jahren angewandt.

Bisher sind als prognostische Marker für den Therapieerfolg eine niedrige Proliferationsrate und ein hoher Uptake in der Somatostatin-Rezeptor-Bildgebung bekannt (30). Trotz entsprechender Vorauswahl der Patienten übersteigt der Anteil an

Patienten, die eine partielle Remission (PR) zeigen, generell nicht eine Rate von 30-40% (2, 17, 31).

Trotz des Erreichens einer kumulativ resorbierten Dosis von bis zu 250 Gy führt auch die PRRT nur selten zu einer kompletten Remission und die Todesraten sind nicht zufriedenstellend niedrig genug (32).

Vor diesem Hintergrund wurde in dieser Studie untersucht, wie man Patienten mit NET, die für eine PRRT in Frage kommen, schon vor Therapiebeginn eine bessere Vorhersage über deren Therapieerfolg machen kann und welche Faktoren für ein nicht zufriedenstellendes Ergebnis eine Rolle spielen.

Forschung an anderen Tumorentitäten hat gezeigt, dass intratumorale Heterogenität eine häufige Beobachtung ist und ein wichtiges Thema für die Therapieoptimierung darstellt (33-38). Der Begriff "intratumorale Heterogenität" beschreibt das Vorkommen einer Variabilität von Zellen mit unterschiedlichen Eigenschaften innerhalb eines Tumors. So können Tumorzellen innerhalb eines Tumors verschiedene Charakteristika im Genom, Epigenom und Transkriptom aufweisen. Dementsprechend kann es zwischen den Zellen innerhalb eines Tumors Unterschiede im Metabolismus und in Proliferationseigenschaften geben sowie dem Potential, Metastasen auszubilden und somit auch Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber bestimmten Therapeutika.

Die Unterschiede zwischen Zellen innerhalb einer Metastase bezeichnet man als intrametastatische Heterogenität. Eine intrametastatische Heterogenität bei NET findet sich zum Beispiel in der unterschiedlichen SSTR Expression von Zellen innerhalb einer Metastase (39). Diese intrametastatische Heterogenität der SSTR Expression zeigt sich auf [⁶⁸Ga] DOTATATE oder -DOTATOC PET Bildern in unterschiedlichen Intensitäten und kann somit sichtbar gemacht.

Zum Zeitpunkt des Verfassens der Dissertation gibt es nur zwei veröffentlichte Studien darüber, welche Rolle Heterogenität, abgebildet auf PET-CT Bildern, für den therapeutischen Erfolg einer PRRT-Behandlung von NET-Patienten spielt (40-42). Beide weisen bereits auf einen prognostischen Wert der Heterogenität hin.

Das Ziel dieser Studie ist es, den Einfluss unterschiedlicher intrametastatischer SSTR Expression auf das Gesamtüberleben (Overall Survival – OS) und Zeit bis zur

Progression (Time to Progression - TTP) von Patienten mit NET unter PRRT zu beurteilen. Wir haben dazu folgenden Ansatz gewählt: Die Qualität der SSTR-Expression wird im [⁶⁸Ga] DOTA-TATE oder [⁶⁸Ga] DOTA-TOC PET/CT gemessen und daraufhin die Patientenpopulation retrospektiv in zwei Gruppen eingeteilt: homogene oder heterogene SSTR-Expression.

Ein weiteres, für die Therapiepraxis wichtiges Ziel dieser Arbeit ist es, aus den gewonnenen Ergebnissen den PRRT-Patienten eine verlässlichere Therapieprognose geben zu können und dem behandelnden Arzt eine bessere Entscheidungsgrundlage bei der Empfehlung zur PRRT zu geben.

2. Methodik

Die Daten aus [⁶⁸Ga] DOTA-TATE oder [⁶⁸Ga] DOTA-TOC PET/CT Bildern sowie Daten von Patienten mit neuroendokrinen Tumoren, die an der Charité Universitätsmedizin Berlin, in der Klinik für Nuklearmedizin, zwischen Juli 2011 und Dezember 2016 mit [¹⁷⁷Lu] DOTA-TOC oder [¹⁷⁷Lu] DOTA-TATE behandelt wurden, wurden retrospektiv analysiert. Unsere hausinterne Ethikkommission (Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin) hatte die Studie genehmigt (Antragsnummer EA1/168/17) und alle Patienten haben der Verwendung ihrer anonymisierten Daten zu Forschungszwecken sowie deren Veröffentlichung zugestimmt.

2.1. Ein- und Ausschlusskriterien

Der Aufbau der Studie ist in Abbildung 1 graphisch dargestellt. Insgesamt haben 97 Patienten die Einschlusskriterien erfüllt. Die Einschlusskriterien der Studie waren:

1. Patienten, die von 07/2011 bis 12/2016 vom Multidisziplinären Tumorboard (MDTB) zur PRRT vorgeschlagen wurden
2. Patienten mit Grad 1 oder Grad 2 progressiven NET (basierend auf RECIST 1.1 Kriterien).

Patienten mit Grad 3 NEN (meist NEC) haben somit die Einschlusskriterien nicht erfüllt. Gemäß den zur Zeit der Studie gültigen ENETS-Guidelines war die PRRT nicht in den Therapieempfehlungen für Grad 3 NET enthalten und nur sehr wenige Patienten mit Grad 3 NET wurden im Rahmen individueller Heilversuche behandelt (28). Die Anzahl der Patienten in dieser Subgruppe war somit zu niedrig, um eine sinnvolle statistische Auswertung in einer multifaktoriellen Analyse durchzuführen. Wegen folgender Ausschlusskriterien wurden 32 Patienten aus der Studie ausgeschlossen:

1. Patienten erhielten nur einen PRRT-Zyklus ohne erklärenden Grund für die Nicht-Fortsetzung der Therapie (n = 16).
2. Es gab eine vorherige Behandlung mit Y-90 oder MIBG oder Lu-177 an einem anderen Zentrum (n = 5).
3. Patienten waren bereits in anderen Studien eingeschlossen (n = 7).
4. Bei dem Patienten fand keine Follow-up Untersuchung nach dem letzten Therapiezyklus statt (n = 4).

Letztendlich besteht die Studienpopulation aus 65 Patienten (25 Frauen, 40 Männer; 65 ±11 Jahre).

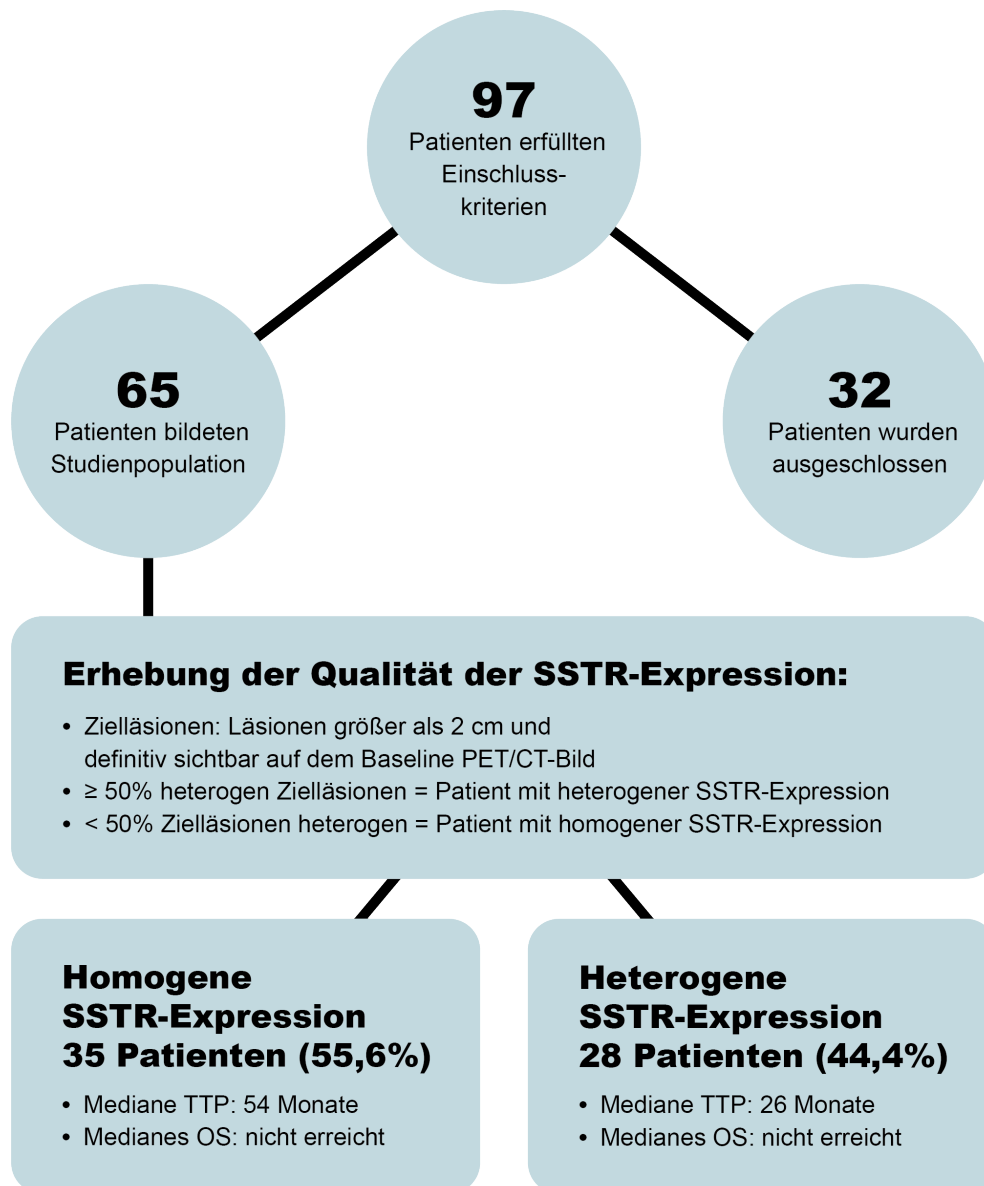


Abbildung 1: Grafische Darstellung des Studiendesigns

Abkürzungen: SSTR = Somatostatinrezeptor; TTP = Zeit bis zur Progression; OS = Gesamtüberleben
Die Ein- und Ausschlusskriterien werden in Abschnitt 2.1. beschrieben. Bei zwei Patienten der Studienpopulation fehlte die Gruppenzuteilung nach Qualität der SSTR-Expression.

Adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: **Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

2.2. Erstellung der Datenbank

Als nächstes wurde eine Datenbank erstellt, in der Eigenschaften der Patienten erfasst wurden, die möglicherweise einen Einfluss auf den Therapieerfolg der PRRT haben könnten. Die Daten wurden aus den Protokollen unserer multidisziplinären Tumorkonferenz (MDTB) entnommen und mit Arztbriefen der behandelnden Abteilungen (Gastroenterologie, Radiologie, Nuklearmedizin) ergänzt.

Es wurden in die Datenbank für jeden Patienten folgende Variablen aufgenommen: Geschlecht (männlich oder weiblich), Alter zur ersten PRRT und Alter nominalskaliert in >50 Jahre und <50 Jahre. Das Vorhandensein eines Karzinoidsyndroms (vorhanden oder nicht vorhanden) und das Vorhandensein einer Karzinoid-Herzerkrankung (vorhanden oder nicht vorhanden).

Die Diagnose einer Karzinoid-Herzerkrankung beruht auf den Ergebnissen echokardiographischer Routineuntersuchungen aus der Abteilung für Kardiologie.

Die primäre Lokalisation des Tumors wurde erfasst und in folgende Subgruppen zusammengefasst: Ileum, Pankreas, Krebserkrankung mit unbekanntem Primärtumor (CUP-Syndrom) und „Rektum oder Lunge“. Tumore des Thymus, der Niere und des Appendix wurden zur Gruppe der „sonstige Tumorlokalisationen“ zusammengefasst. Die Gradeinteilung (Grad 1 oder Grad 2) und der Ki67-Index wurden ebenfalls in die Datenbank aufgenommen.

Bezogen auf die Therapie wurden folgende Kriterien in die Datenbank aufgenommen: Therapielinie, Therapien vor und nach der PRRT, SSA-Therapie, Dosierung der PRRT, sowie Anzahl und Datum der Therapiezyklen. Zusätzlich wurden das Todesdatum und das Datum der Progression erfasst, und daraus das Gesamtüberleben (Overall Survival, OS) und die Zeit bis zur Progression (Time to Progression, TTP) berechnet und dokumentiert:

Als OS wird die Zeitspanne von der ersten Behandlung bis zur letzten Follow-up Untersuchung oder bis zum Todesdatum angegeben.

TTP beschreibt die Zeitspanne vom Beginn der PRRT bis zum Datum, an dem die Progression erstmals beobachtet wurde.

Der Therapieerfolg nach der letzten PRRT, basierend auf den RECIST 1.1 Kriterien, wurde ebenfalls in die Datenbank aufgenommen (43).

Die Beurteilung nach RECIST 1.1 Kriterien wurde, unabhängig von der Studie, von Ärzten des MDTB während des klinischen Alltags durchgeführt. Nur in Fällen von

Diskrepanzen oder wenn keine eindeutige Dokumentation zu RECIST in den Tumorkonferenzberichten vorhanden war, wurden die Patientenbilder für diese Studie erneut analysiert.

Von jedem Patienten wurde ein PET/CT Bild vor Therapiebeginn (sog. Baseline PET/CT) von mir und Vikas Prasad analysiert, um die Qualität der SSTR-Expression (heterogen oder homogen) zu beurteilen und in die Datenbank aufzunehmen. Unsere genaue Methodik der Beurteilung des SSTR-Expressionstyp wird in Abschnitt 2.5 erklärt.

2.3. Durchführung der PRRT und Bildgebung bei NET Patienten der Charité

Bei der Durchführung der PRRT wurden Standardarbeitsanweisungen (SOPs) unserer Klinik verwendet, in denen die Richtlinien der Europäischen Vereinigung für Nuklearmedizin (European Association of Nuclear Medicine (EANM)) berücksichtigt sind, die Empfehlungen für Indikationen, Kontraindikationen und Durchführung der PRRT, sowie Bewertung des Ansprechens auf die Behandlung und Patientennachsorge geben (44).

Die Patienten wurden vor der Therapie über die Art der Durchführung, mögliches Therapieergebnis, Nebenwirkungen, Risiken und alternative Therapiemöglichkeiten aufgeklärt und haben mündlich und schriftlich der Therapie zugestimmt. Die Entscheidung eine PRRT durchzuführen wurde in einer multidisziplinären Tumorkonferenz getroffen. In unserer Klinik, der Charité Universitätsmedizin Berlin, besteht diese aus den Fachrichtungen Pathologie, Gastroenterologie, Radiologie, und Nuklearmedizin. Hierbei wurde in unserem Zentrum, gemäß den ENETS-Guidelines, die PRRT nur durchgeführt, wenn sich eine ausreichende Anreicherung in der Somatostatin Rezeptor Szintigraphie gezeigt hat (28). So wurden nur Patienten mit einer Monotherapie PRRT behandelt und in diese Studie aufgenommen, die eine SSTR-Expression auf über 90% der Metastasen gezeigt haben.

[¹⁷⁷Lu] DOTA-TOC oder [¹⁷⁷Lu] DOTA-TATE wurden im Rahmen des Behandlungsstandards für NET Patienten in unserem Radiochemielabor selber hergestellt und hatten eine radiochemische Reinheit von 99–100%.

Die Patienten erhielten eine langsame intravenöse Infusion mit [¹⁷⁷Lu] DOTA-TOC oder [¹⁷⁷Lu] DOTA-TATE über 10-15 Minuten. Alle Patienten erhielten zum Nierenschutz eine Infusion mit 1500ml einer Aminosäurenmischung über fünf Stunden (25 g Lysine und 25 g Arginine) am Tag der PRRT, 30 Minuten vor der PRRT Infusion bis zu 4 Std nach der

PRRT. Die gleiche Infusion wurde ggf. (abhängig von der Nierenfunktion) nochmal am Tag nach der PRRT verabreicht.

Die durchschnittlich verabreichte Dosis pro Zyklus war 6.6 ± 0.97 GBq [^{177}Lu] DOTA-TOC oder [^{177}Lu] DOTA-TATE. Bei Patienten mit vorliegenden Risikofaktoren (Diabetes, unkontrollierter Bluthochdruck, Chemotherapie innerhalb der letzten drei Monate vor der PRRT, Karzinoid-Herzsyndrom, Niereninsuffizienz, oder Knochenmarksdepression Grad 1/Grad 2) wurde die Dosis auf bis zu 30% der Standarddosis von 7,4 GBq reduziert.

Bei allen Patienten war es geplant, mindestens drei Therapiezyklen in einem Abstand von 8-12 Wochen durchzuführen. Drei Monate nach dem zweiten Therapiezyklus wurde eine Staging SSTR PET/CT oder CT und/oder eine MRT durchgeführt. Weitere Staging Untersuchungen fanden nach dem dritten und vierten Zyklus statt.

Die Ergebnisse der Staginguntersuchungen wurden im MDTB diskutiert und hier wurde auch eine Entscheidung zur Fortführung der PRRT getroffen. Als Entscheidungsgrundlage wurde das Ansprechen des Tumors auf die Therapie, der klinische Zustand des Patienten, die Verträglichkeit der Therapie und deren aufgetretene Nebenwirkungen berücksichtigt. Nach der letzten PRRT wurden die Patienten zum Staging regelmäßig in drei- bis sechsmonatigen Abständen einer SSTR PET/CT (3 phasisch) oder CT alleine und/oder MRT alleine unterzogen. Die Entscheidung über die Durchführung weiterer Bildgebungen wurde hauptsächlich vom klinischen Zustand des Patienten abhängig gemacht.

Die Bildgebung mittels [^{68}Ga] DOTA-TATE oder [^{68}Ga] DOTA-TOC PET / CT (PET/CT) wurde mit einem Gemini TF 16 PET / CT-System (Philips Medical Systems) nach den Richtlinien der EANM durchgeführt (45). So wurden in der Richtlinie genannte Indikationen und Kontraindikationen eingehalten sowie deren Empfehlung zu Patientenvorbereitung, Bildaufnahme und Bildbewertung berücksichtigt. Nach Aufklärung des Patienten wurde ca. 60min nach Injektion von [^{68}Ga] DOTA-TATE oder [^{68}Ga] DOTA-TOC (durchschnittlich 120 MBq) ein Ganzkörperscan (vom Kopf bis zur Mitte des Oberschenkels) durchgeführt. Immer wenn es möglich war (bei 59 von 64 Patienten, ein Patient unklar), wurde zum Zeitpunkt der PET / CT zusätzlich eine kontrastmittelgestützte mehrphasige CT durchgeführt. Hierbei wurde intravenös 70–100 ml Ultravist 370 (Bayer Pharma, Berlin, Deutschland) mit einer Flussrate von 3–4 ml/s injiziert, mit einer Verzögerung von 30s für die arterielle Phase, 50s für die portalvenöse

Phase und 70s für die venöse Phase. Vier Patienten erhielten kurz vor der PET / CT Untersuchung eine kontrastmittelgestützte CT (15, 37, 48, 57 Tage zuvor). In diesen Fällen wurde die vorherige kontrastmittelgestützte CT zur Beurteilung der Heterogenität herangezogen. Das Therapieansprechen wurde mittels CT oder MRT nach RECIST 1.1 beurteilt (43).

2.4. Erhebung der Qualität der SSTR-Expression

Die Qualität der SSTR-Expression wurde auf einer Baseline-PET beurteilt, die innerhalb eines Jahres vor der ersten PRRT durchgeführt wurde. Unser Ziel war es die Patienten je nach ihrer Qualität der SSTR-Expression in zwei Gruppen einzuteilen: eine Gruppe mit homogener SSTR-Expression und eine Gruppe mit heterogener SSTR-Expression. Als nächsten Schritt sollte dann der Einfluss dieser Gruppenzugehörigkeit auf den Therapieerfolg der PRRT statistisch analysiert werden.

Zur Erhebung der Qualität der SSTR-Expression haben wir folgenden Ansatz gewählt: PET / CT-Bilder wurden parallel von zwei Untersuchern (JG und VP) nach dem Vieraugenprinzip analysiert, es traten dabei keine Inkongruenzen bei der Entscheidung der Gruppenzuteilung auf.

Die Qualität der SSTR-Expression wurde visuell wie folgt beurteilt: Alle Läsionen, die größer als 2 cm und in der CT definitiv sichtbar waren, wurden für die Beurteilung berücksichtigt. Diese Zielläsionen wurden in der transaxialen, koronaren und sagittalen Achse von PET-Bildern erneut analysiert.

Zuerst wurde die maximale Intensität der SSTR-Expression in der Bildgebung auf allen Läsionen in Leber, Lymphknoten und Primärtumor bestimmt und gemäß einer modifizierten Krenning Skala einer Gradeinteilung unterzogen (25). So entspricht in unserer Einteilung der Krenning Grad 1 einer Anreicherung gleich Leber, Grad 2 höher als in der Leber und der Grad 3 entspricht einer höheren Anreicherung als in der Niere oder Milz.

Als nächstes haben wir die Läsionen in drei Dimensionen nach der Variabilität der Krenning Skala beurteilt. Eine Veränderung von Grad 3/4 zu Grad 2 oder von Grad 2 zu Grad 1 innerhalb einer Läsion in jeder Achse wurde als Grenze festgelegt, um die Läsion als heterogen zu definieren. Dabei musste die Veränderung über eine Strecke von über 5 mm beständig sein, weil die intrinsische Auflösung des in dieser Studie verwendeten PET-Scanners 4,8 mm in der Bildmitte betrug.

Im Falle einer zentralen Nekrose wurde die Qualität der SSTR-Expression nur an

soliden Tumorkläsionen und /oder am Rand der Tumorkläsion beurteilt. So haben wir einen Patienten der Gruppe „heterogene SSTR-Expression“ zugeordnet, wenn $\geq 50\%$ seiner Kläsionen heterogen waren. Patienten mit $<50\%$ heterogenen Kläsionen wurden von uns der Gruppe „homogene SSTR-Expression“ zugeteilt.

Da Knochenmetastasen von NET im CT im Allgemeinen nicht gut sichtbar sind und Lungenmetastasen einen sehr hohen Partialvolumeneffekt haben, haben wir sie für diese Analyse nicht berücksichtigt.

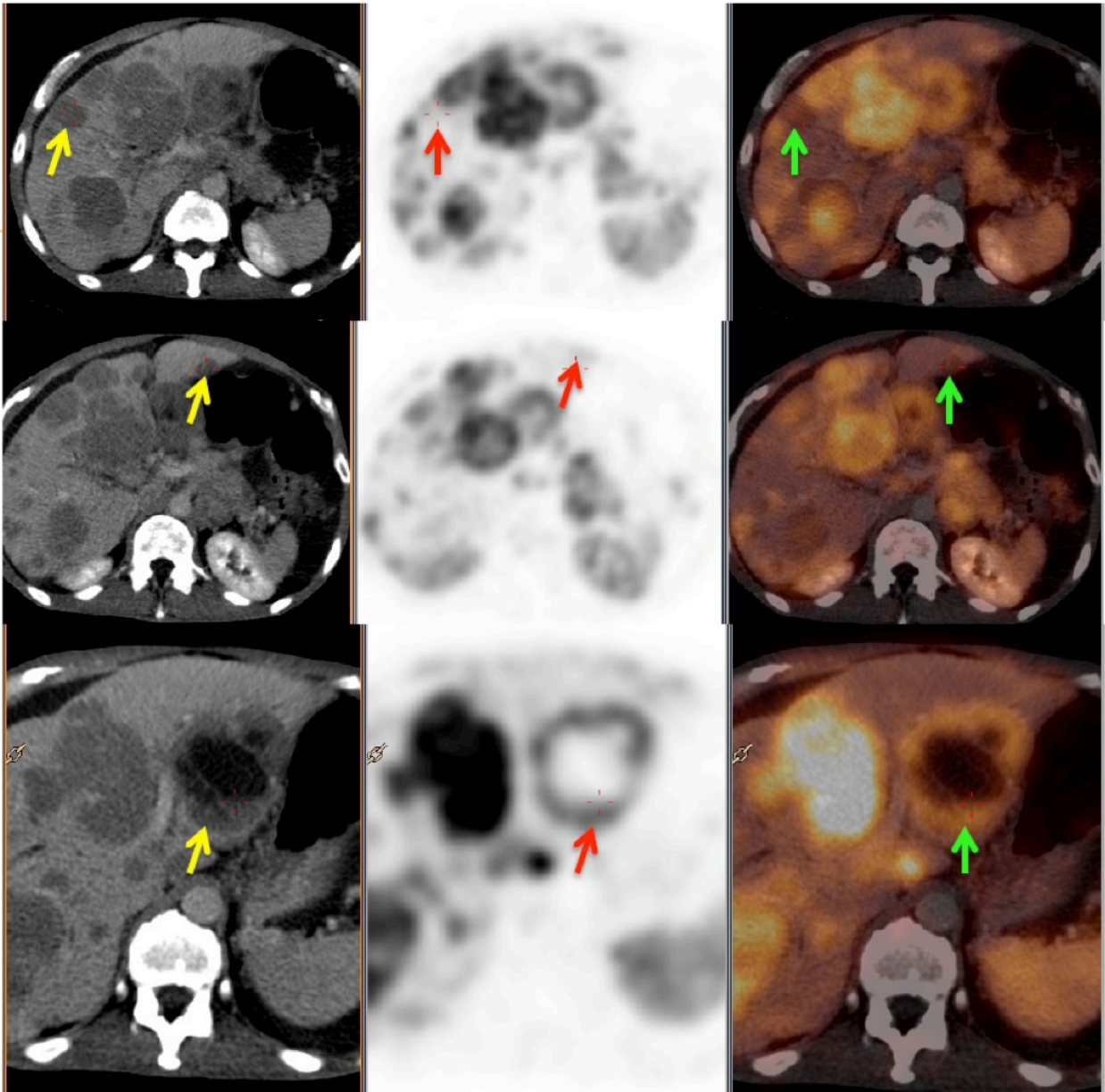


Abbildung 2 Beispiel einer PET/CT-Bildgebung eines Patienten mit heterogener SSTR-Expression. Linke Reihe: CT Bilder; mittlere Reihe: PET Bilder; rechte Reihe: PET/CT fusionierte Bilder. Die gelben Pfeile zeigen Beispiele von CT-Läsionen in der Leber. Rote und grüne Pfeile zeigen die entsprechenden Läsionen auf PET- und PET/CT fusionierten Bildern. Dieser Patient wurde als heterogen charakterisiert, da mehr als 50 % der Zielläsionen eine heterogene SSTR-Expression zeigten.

Adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: **Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

2.5. Statistische Analyse

Für die statistische Analyse wurde das Programm SPSS Statistics 25 (IBM Inc. Armonk, NY, USA) verwendet.

Um die Studienpopulation zu charakterisieren, wurde das arithmetische Mittel (Durchschnitt), Median, Spannweite und Standardabweichung (SD) der stetigen Variablen berechnet. Binäre und ordinal skalierte Variablen wurden mit absoluten und relativen Häufigkeiten angegeben. Um Unterschiede zwischen binären oder ordinal skalierten Variablen zu analysieren, wurde der exakte Fisher-Test verwendet. Das Gesamtüberleben (OS) und die Zeit bis zur Progression (TTP) wurden mit der Kaplan-Meier-Analyse untersucht. Die Untergruppen wurden mit einem einseitigen Log-Rank-Test verglichen. Ein p-Wert unter 0,5 wurde als statistisch signifikant angesehen.

Um unabhängige prognostische Parameter zu bestimmen, wurde eine multivariate Cox-Regressionsanalyse durchgeführt. Das multivariate Modell wurde nach der "Enter-Methode" konstruiert. Es erfolgte kein schrittweises Einschließen oder Ausschließen von Kovariaten.

Sowohl aus der Literatur als signifikant bekannte Faktoren als auch basierend auf klinischer Erfahrung wurden Kovariaten für die Analyse ausgewählt. In die Regressionsanalyse für OS wurden somit neben der Qualität der SSTR-Expression folgende Kovariaten eingeschlossen: Grad des Tumors, Lokalisation des Primärtumors und Karzinoid-Herzerkrankung. Für TTP wurden neben der Qualität der SSTR-Expression folgende Kovariaten gewählt: Grad des Tumors und Lokalisation des Primärtumors. Die Ergebnisse wurden als Hazard Ratio (HR) zusammen mit dem 95%-Konfidenzintervall (CI) berichtet. Ein p-Wert unter 0,5 wurde als statistisch signifikant angesehen.

3. Ergebnisse

Als Ergänzung zum Text finden sich in Tabelle 1, 2, 3 und 4 die Ergebnisse für OS und TTP zusammen mit den Patientencharakteristika im Detail. In Abbildung 3 bis 9 findet sich eine graphische Präsentation der Ergebnisse.

3.1. Patientencharakteristika

Von den 65 in die Studie eingeschlossenen Patienten waren mehr als die Hälfte der Patienten männlich. Die überwiegende Mehrheit der Patienten war über 50 Jahre alt. Das mediane Alter der Studienkohorte war 65 Jahre und das durchschnittliche Alter war 61,83 Jahre (SD 11,01 Jahre, Spannweite 51,44 Jahre).

Die große Mehrheit der Patienten hatte eine NET-Erkrankung Grad 2 (51 Patienten (78.5%)), nur 12 Patienten (18.5%) hatten Grad 1. Bei zwei Patienten war die Gradeinteilung nicht dokumentiert.

Der durchschnittliche Ki67-Index war 6.9% (Median 5, SD 5.81, Spannweite 20); nur zehn Patienten (15,4%) hatten Ki67 Indices > 10%.

Den größten Anteil der Primärtumorlokalisationen machten die Patienten mit Ileumtumor aus (24 von 65 Patienten; 36,9%) (s. Abbildung 3). Darauf folgten Pankreas (16 Patienten (24.6%)) und „Rektum oder Lunge“ (12 Patienten (18.5%)). 7 Patienten hatten Krebserkrankung mit unbekanntem Primärtumor (CUP). Die kleinste Gruppe bildeten „Sonstige Tumorlokalisationen“ (6 Patienten (9.2%)), welche Patienten mit Tumoren des Thymus, Appendix und der Niere beinhaltet

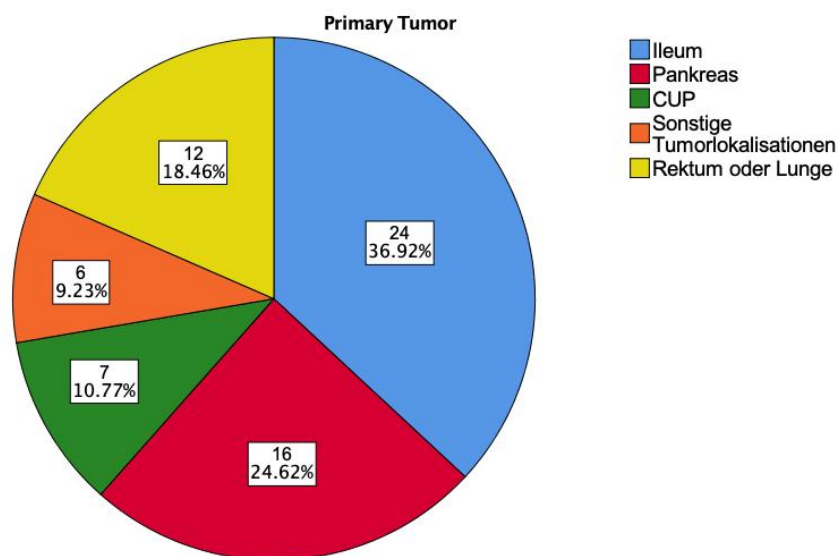


Abbildung 3 Häufigkeitsverteilung der Lokalisation des Primärtumors

Die meisten Patienten hatten kein Karzinoidsyndrom (Kein Karzinoidsyndrom: 42 Patienten, 64,6%; Vorliegen eines Karzinoidsyndroms: 23 Patienten, 35,4%). Nur wenige hatten eine Karzinoid-Herzerkrankung (8 Patienten (12,3%) mit Karzinoid-Herzerkrankung, 57 Patienten (87,7%) ohne Karzinoid-Herzerkrankung).

Die Patienten wurden mit zwei bis fünf Therapiezyklen PRRT behandelt, wobei über die Hälfte der Patienten drei Therapiezyklen erhielt.

Für 26 Patienten (40%) erfolgte die PRRT als Erst- oder Zweitlinientherapie, davon bei vier Patienten als Erstlinientherapie und bei 22 Patienten als Zweitlinientherapie. 39 (60%) Patienten erhielten die PRRT als Drittlinie oder höher (s. Abbildung 4).

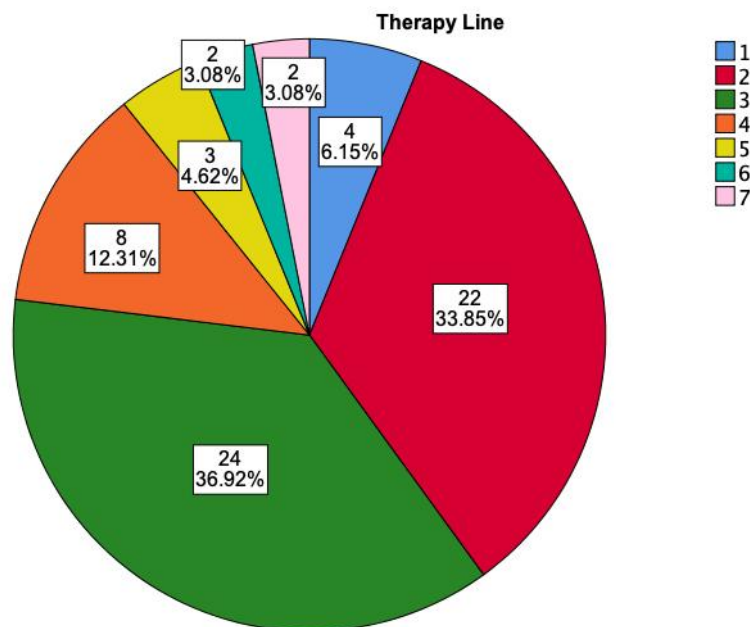


Abbildung 4 Häufigkeitsverteilung der Therapielinie

Die häufigsten Vortherapien waren Operation, SSA-Therapie und Chemotherapie. In Tabelle 5 sind die Vortherapien der Patienten aufgelistet (findet sich am Ende des Ergebnisteils).

Für die aus der Bildgebung ermittelten Variablen „Grad der modifizierten Krenning Skala“, „Qualität der SSTR-Expression“ und „Therapieansprechen“ ergaben sich folgende Häufigkeiten:

Etwa die Hälfte der Patienten zeigte in der modifizierten Krenning Skala einen Grad 3 (33 Patienten (51,6%)), während 22 (34,4%) Grad 2 hatten und bei nur 9 Patienten

(14.1%) Grad 1 auftrat.

Die Qualität der SSTR-Expression war heterogen bei 28 (44.4%) Patienten, eine homogene Expression trat bei 35 (55.6%) der Patienten auf (s. Abbildung 5).

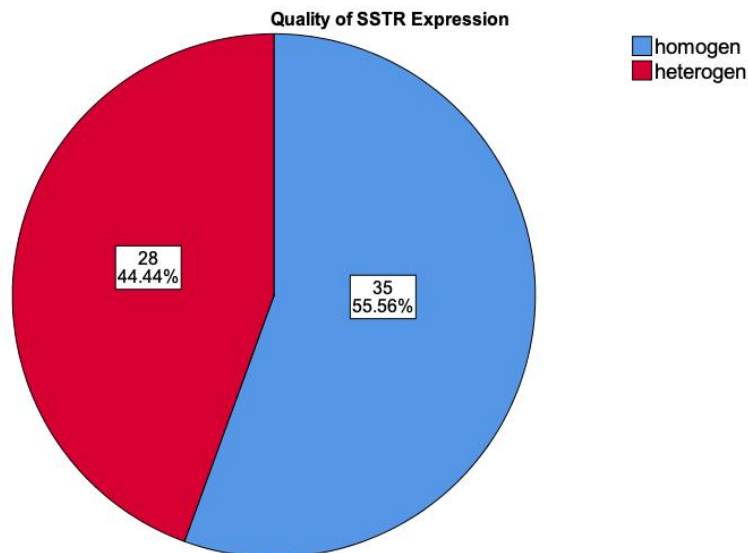


Abbildung 5 Häufigkeitsverteilung der Qualität der SSTR-Expression

Nach dem zweiten PRRT Therapiezyklus zeigten 23 Patienten (35.4%) eine Stabilisierung der Erkrankung, eine partielle Remission trat bei 17 (26.1%) Patienten auf und 25 (38.5%) Patienten zeigten eine Progression der Erkrankung.

3.2. Kaplan-Meier Analyse des Gesamtüberleben (OS)

Die Ergebnisse der statistischen Analyse von OS sind in Tabelle 1 und Tabelle 2 zusammengefasst.

Die Kaplan-Meier Analyse ergab, dass ein medianes OS der gesamten Studienpopulation während des Nachverfolgungszeitraums noch nicht erreicht wurde (s. Abbildung 6). Die Patienten wurden im Median für 25 Monate nachverfolgt (Durchschnitt 29,63 Monate, SD 17,18 Monate, Spannweite 72 Monate). Von den 65 untersuchten Patienten sind währenddessen 14 (21.5%) verstorben.

Die 24-Monate Überlebensrate der gesamten Studienpopulation betrug 83.08%.

In der univariaten Analyse zeigten sich folgende Faktoren als signifikante Einflüsse auf OS: das Vorliegen eines Karzinoïdsyndroms ($p=0,03$), das Vorliegen einer Karzinoïd-

Herzerkrankung ($p=0,04$) und die Qualität der SSTR-Expression ($p=0,01$).

So starben 50% (4 von 8) der Patienten mit Karzinoid-Herzsyndrom innerhalb des Nachverfolgungszeitraums, während nur 17.5% (10 von 57) der Patienten ohne Karzinoid-Herzsyndrom verstarben. Es starben 39.1% (9 von 23) der Patienten mit Karzinoidsyndrom während des Nachverfolgungszeitraums, während nur 11.9% (5 von 42) der Patienten ohne Karzinoidsyndrom verstarben.

In unserer Studie gab es keinen signifikanten Einfluss von Grad des Tumors, Geschlecht und Therapielinie auf das Gesamtüberleben der Patienten.

Eine univariate Analyse für Lokalisation des Primärtumors, Alter des Patienten und Anzahl an Therapiezyklen konnte wegen zu wenig Ereignissen in den Subgruppen nicht durchgeführt werden.

Bei den aus der Bildgebung gewonnenen Variablen zeigte sich lediglich die Qualität der SSTR-Expression für OS als signifikant ($p=0,01$).

Bei den 35 Patienten der Gruppe mit homogener SSTR-Expression starben nur 11.4% (4 Patienten) im Nachverfolgungszeitraum, während von den 28 Patienten aus der Gruppe mit heterogener SSTR-Expression 35.7% (10 Patienten) verstarben. Eine grafische Darstellung des OS aufgeteilt nach Qualität der SSTR-Expression findet sich in Abbildung 7.

Die Zwei-Jahres-Überlebensrate bei Patienten mit homogener SSTR-Expression betrug 88,6% (31 von 35 waren nach 24 Monaten noch am Leben). Im Vergleich dazu hatten Patienten mit heterogener SSTR-Expression eine 24-Monats-Überlebensrate von 75%, wobei 21 von 28 Patienten nach 24 Monaten noch lebten.

Keinen Einfluss auf das Gesamtüberleben hatten in der Studienpopulation die Gradeinteilung nach der Modifizierten Krenning Skala und das Therapieansprechen nach RECIST 1.1 Kriterien.

	Anzahl	Tod	Logranktest p	HR ⁽¹⁾	Cox 95% KI ⁽²⁾	Cox p
Gesamte Studienpopulation	65 (100%)	14				
Geschlecht						
Männlich	40 (61.5%)	11	0.12			
Weiblich	25 (38.5%)	3				
Alter			X			
<50	9 (13.85%)	0				
>50	56 (86.15%)	14				
Gradeinteilung			0.23	1.41	0.37 - 5.41	0.62
Grad 1	12 (18.5%)	4				
Grad 2	51 (78.5%)	10				
Fehlend	2 (3%)					
Therapielinie PRRT⁽³⁾			0.93			
Erst- oder Zweitlinie	26 (40%)	5				
Drittlinie oder höher	39 (60%)	9				
Anzahl an PRRT Therapiezyklen			X (4)			
Zwei	19 (29.2%)	6				
Drei	36 (55.4%)	7				
Vier	9 (13.8%)	1				
Fünf	1 (1.5%)	0				
Lokalisation des Primärtumors			X	0.69	0.42 - 1.12	0.13
Ileum	24 (36.9%)	8				
Pankreas	16 (24.6%)	4				
CUP (5)	7 (10.8%)	1				
Rektum oder Lunge	12 (18.5%)	1				
Sonstige (6)	6 (9.2%)	0				
Karzinoid-Herzerkrankung			0.04	0.38	0.47 - 7.15	0.38
nein	57 (87.7%)	10				
ja	8 (12.3%)	4				
Karzinoidsyndrom			0.03			
nein	42 (64.6%)	5				
ja	23 (35.4%)	9				

Tabelle 1: Patientencharakteristika und die Statistische Analyse des Gesamtüberlebens (OS)

Patientencharakteristika und die Ergebnisse der Kaplan-Meier und Cox-Regressionsanalysen sind aufgelistet. Alle Dezimalstellen wurden auf zwei Stellen hinter dem Komma gerundet. Das mediane OS wurde in den Untergruppen nicht erreicht.

(1) HR: Hazard Ratio

(2) CI: Konfidenzintervall

(3) PRRT: Peptid Radio Rezeptor Therapie

(4) X: Analyse nicht möglich

(5) CUP: Krebserkrankung mit unbekanntem Primärtumor

(6) Sonstige Tumorlokalisierung: Thymus, Niere, Appendix

Adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: **Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

	Anzahl	Tod	Logranktest p	HR ⁽¹⁾	Cox 95% CI ⁽²⁾	Cox p
Modifizierte Krenning Skala			0.14			
Grad 1 gleich der Leber	9 (14.1%)	2				
Grad 2 höher als Leber	22 (34.4%)	8				
Grad 3 höher als Milz und Niere	33 (51.6%)	4				
Fehlend	1 (6.14%)					
Qualität der SSTR⁽³⁾ Expression			0.01	3.68	1.09 - 12.48	0.04
Heterogen	28 (43.08%)	10				
Homogen	35 (53.85%)	4				
Fehlend	2 (3.07%)					
Therapieansprechen			0.28			
Stable Disease (SD)	23 (35.4%)	7				
Partial Remission (PR)	17 (26.1%)	2				
Progressive Disease (PD)	25 (38.5%)	5				

Tabelle 2: Bildcharakteristika und Statistische Analyse des Gesamtüberleben (OS)

Die Tabelle zeigt die Bildcharakteristika und Ergebnisse der Kaplan-Meier- und Cox-Regressionsanalyse des Gesamtüberlebens für aus der Bildgebung gewonnene Variablen. Alle Dezimalstellen sind auf zwei Nachkommastellen gerundet. Die Qualität der Expression des Somatostatinrezeptors (SSTR) wurde visuell anhand von Baseline PET-CT-Bildern beurteilt. Wenn $\geq 50\%$ der Zielläsionen heterogen sind, wird der Patient der Gruppe „heterogene Expression“ zugeordnet. Wenn $< 50\%$ der Zielläsionen heterogen sind, wird der Patient der Gruppe „homogene Expression“ zugeordnet. Das mediane OS wurde in den Untergruppen nicht erreicht.

(1): HR: Hazard Ratio

(2): CI: Konfidenzintervall

(3): SSTR: Somatostatin Rezeptor

Adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: **Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

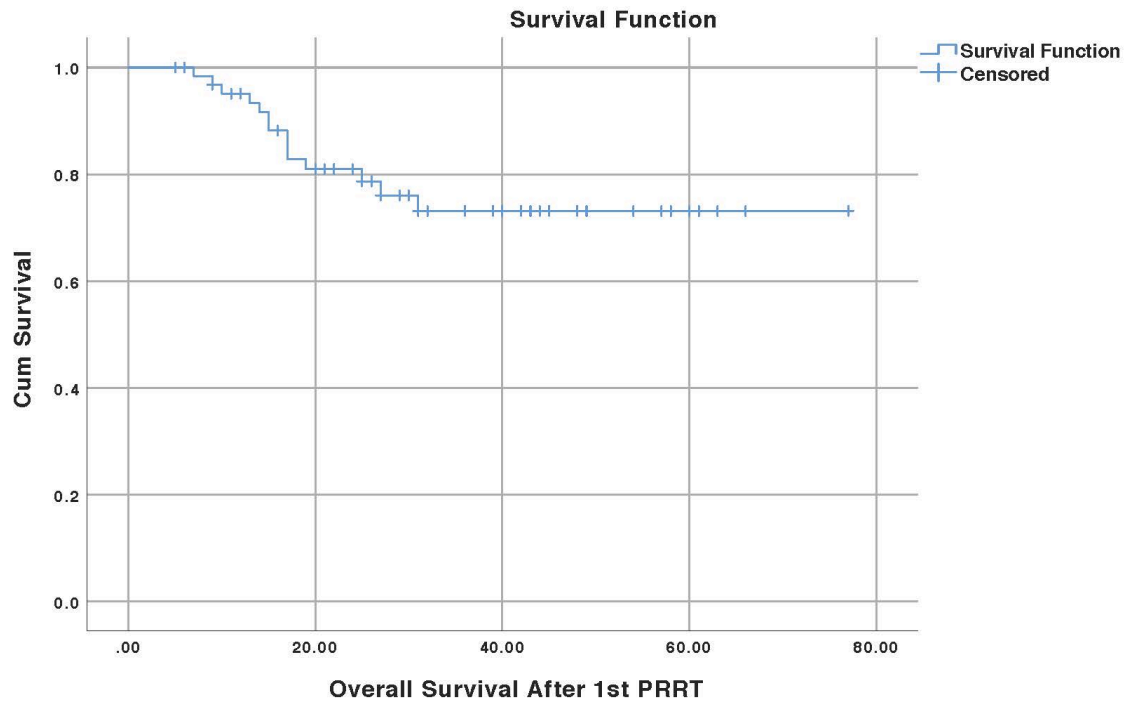


Abbildung 6: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens (OS) für die gesamte Studienkohorte (n = 65). Das mediane Gesamtüberleben wurde in dieser Studie nicht erreicht. Während unserer mittleren Nachbeobachtungszeit von 29,6 Monaten starben 14 Patienten (21,5%). Die 24-Monats-Überlebensrate betrug 83,08%. Innerhalb von 24 Monaten starben 11 Patienten.

Adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: **Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

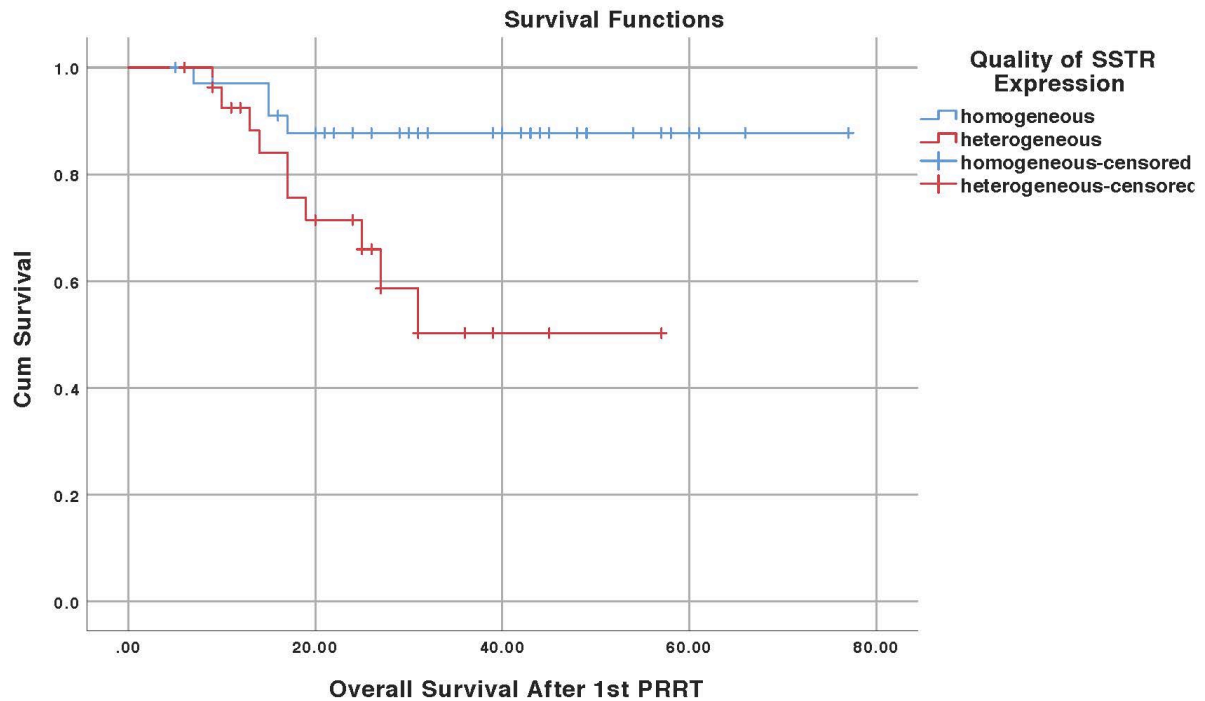


Abbildung 7: Kaplan-Meier-Kurve des Gesamtüberlebens (OS) unterschieden je nach Qualität der SSTR-Expression. Das mediane Gesamtüberleben wurde in beiden Untergruppen nicht erreicht. Die 24-Monats-Überlebensrate für Patienten mit homogener SSTR-Expression war 88,57% und für Patienten mit heterogener SSTR-Expression 75%.

Adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: **Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

3.3. Kaplan-Meier Analyse der Zeit bis zur Progression (TTP)

Die Ergebnisse der statistischen Analyse von TTP sind in Tabelle 3 und Tabelle 4 zusammengefasst.

Die mediane Zeit bis zur Progression (TTP) der gesamten Studienpopulation betrug 40 Monate (s. Abbildung 8). Von den 65 Studienteilnehmern zeigten 25 Patienten eine Progression.

Als einziger signifikanter Faktor für die Zeit bis zur Progression wurde in der univariaten Analyse die Qualität der SSTR-Expression identifiziert ($p=0,013$). (Siehe Abbildung 9 für die grafische Darstellung der Kaplan-Meier Analyse aufgeteilt je nach Qualität der SSTR-Expression)

Patienten mit heterogener SSTR-Expression auf Zielläsionen zeigten signifikant niedrigere TTP als Patienten mit homogener Expression (26 Monate bei heterogener Expression vs. 54 Monate homogener Expression).

Keinen signifikanten Einfluss auf die TTP hatten folgende Variablen:

Geschlecht, Alter, Gradeinteilung des Tumors, Therapielinie, Anzahl der PPRT Zyklen, Lokalisation des Primärtumors, Grad auf der Modifizierten Krenning Skala, Vorliegen einer Karzinoid-Herzerkrankung und Vorliegen eines Karzinoidsyndroms.

3.4. Multivariate Analyse für OS und TTP

In der multivariaten Analyse für OS, in der Grad des Tumors, Lokalisation des Primärtumors, Qualität der SSTR-Expression und Karzinoid-Herzerkrankung enthalten waren, zeigte sich die Qualität der SSTR-Expression als einziger prädiktiver Faktor ($p = 0.04$; HR = 3.68) für das Gesamtüberleben.

Auch in der multivariaten Analyse für TTP zeigte sich wieder nur die Qualität der SSTR-Expression als entscheidender Faktor ($p = 0.03$; HR= 3.09). In der multivariaten Analyse wurden hier die Faktoren Grad, Lokalisation des Primärtumors und Qualität der SSTR Expression eingeschlossen.

Die multivariate Analyse liefert ein konsistentes Resultat zur univariaten Analyse und bestätigt den signifikanten Einfluss der Qualität der SSTR-Expression auf OS und TTP.

3.5. Qualität der SSTR-Expression vs. Grad des Tumors

Dreiundachtzig Prozent der Patienten mit Grad 1 (10 von 12) und nur 34,7% (17 von 49) der Patienten mit Grad 2 NET zeigten eine heterogene SSTR-Expression (exakter Fisher-Test $p = 0.003$). Dieses Ergebnis muss sorgfältig interpretiert werden und wird im Diskussionsteil weiter begründet.

	Anzahl	Progr. ⁽¹⁾	Mediane TTP	Log ⁽²⁾ 95%	Log p	HR ⁽³⁾	Cox 95% CI ⁽⁴⁾	Cox p
Gesamte Studienpopulation	65 (100%)	25	40	21.28 - 58.72				
Geschlecht					0.43			
Männlich	40 (61.5%)	14	40	20.54 - 59.46				
Weiblich	25 (38.5%)	8	58	20.07 - 95.93				
Alter					0.54			
<50	9 (13.85%)	3	58	0 - 119.12				
>50	56 (86.15%)	22	40	23.29 - 56.71				
Gradeinteilung					0.63	1.46	1.46 - 0.47	0.52
Grad 1	12 (18.5%)	5	26	23.92 - 28.08				
Grad 2	51 (78.5%)	20	54	35.81 - 72.19				
Fehlend	2 (3%)							
Therapielinie PRRT⁽⁵⁾					0.33			
Erst- oder Zweitlinie	26 (40%)	7	54	12.95 - 95.05				
Drittlinie oder höher	39 (60%)	18	38	21.01 - 55.00				
Anzahl an PRRT Therapiezyklen			X ⁽⁶⁾	X	X			
Zwei	19 (29.2%)	11						
Drei	36 (55.4%)	11						
Vier	9 (13.8%)	3						
Fünf	1 (1.5%)	0						
Lokalisation des Primärtumor					0.87	1.01	0.76 - 1.34	0.93
Ileum	24 (36.9%)	8	37	20.80 - 53.19				
Pankreas	16 (24.6%)	6	40	5.17 - 74.84				
CUP ⁽⁷⁾	7 (10.8%)	2	ne ⁽⁸⁾					
Rektum oder Lunge	12 (18.5%)	5	54					
Sonstige ⁽⁸⁾	6 (9.2%)	4	58					
Karzinoid-Herzerkrankung					0.28			
ja	57 (87.7%)	24	40	22.19 - 57.81				
nein	8 (12.3%)	1						
Karzinoidsyndrom					0.6			
nein	42 (64.6%)	16	54	33.95 - 74.05				
ja	23 (35.4%)	6	38	35.57 - 40.43				

Tabelle 3 Patientencharakteristika und statistische Analyse von Zeit bis zur Progression (TTP)

Patientencharakteristika und die Ergebnisse der Kaplan-Meier und Cox-Regressionsanalyse für TTP sind aufgelistet. Alle Dezimalzahlen sind auf zwei Nachkommastellen gerundet.

(1) Progr.: Anzahl der Patienten, die eine Progression zeigten
(2) Log: Logranktest
(3) HR: Hazard Ratio
(4) CI: Konfidenzintervall

(5) PRRT: Peptid Radio Rezeptor Therapie
(6) X: Analyse nicht möglich
(7) CUP: Krebserkrankung mit unbekanntem Primärtumor
(8) ne: nicht erreicht
(9) Sonstige Tumorlokalisation: Thymus, Niere, Appendix

Adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: **Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

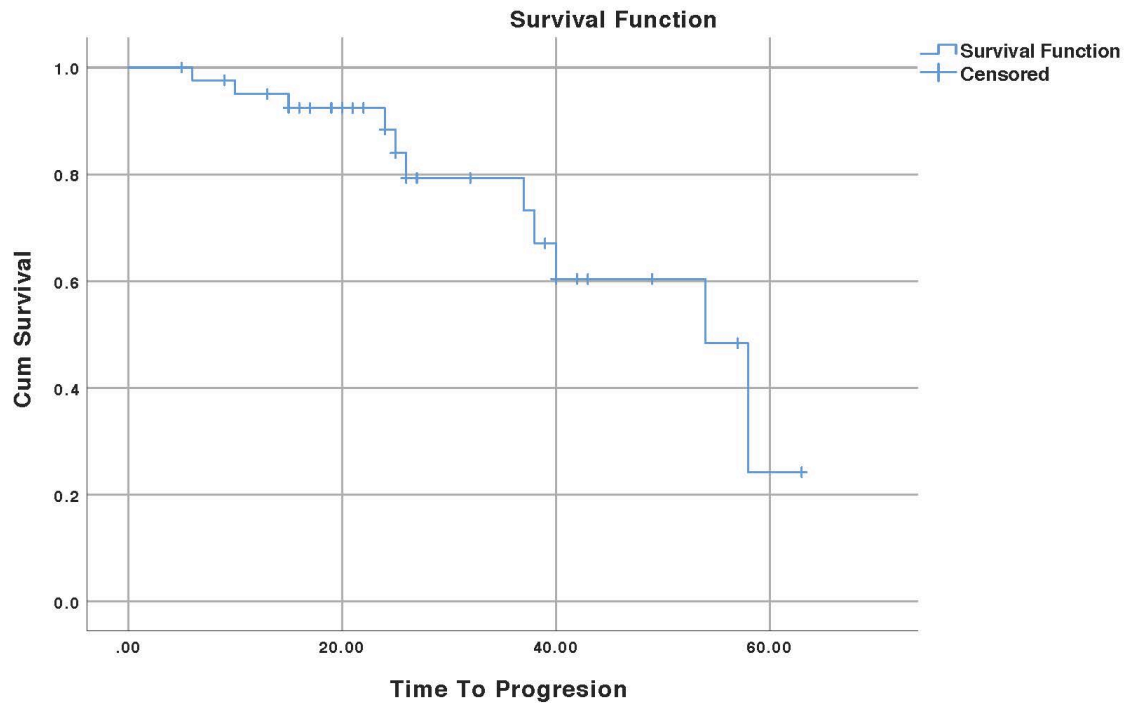


Abbildung 8: Kaplan-Meier-Kurve der Zeit bis zur Progression (TTP) für die gesamte Studienkohorte (N = 65). Der Median der TTP lag bei 40 Monaten (95%, CI: 21,28-58,72 Monate)

Adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: **Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

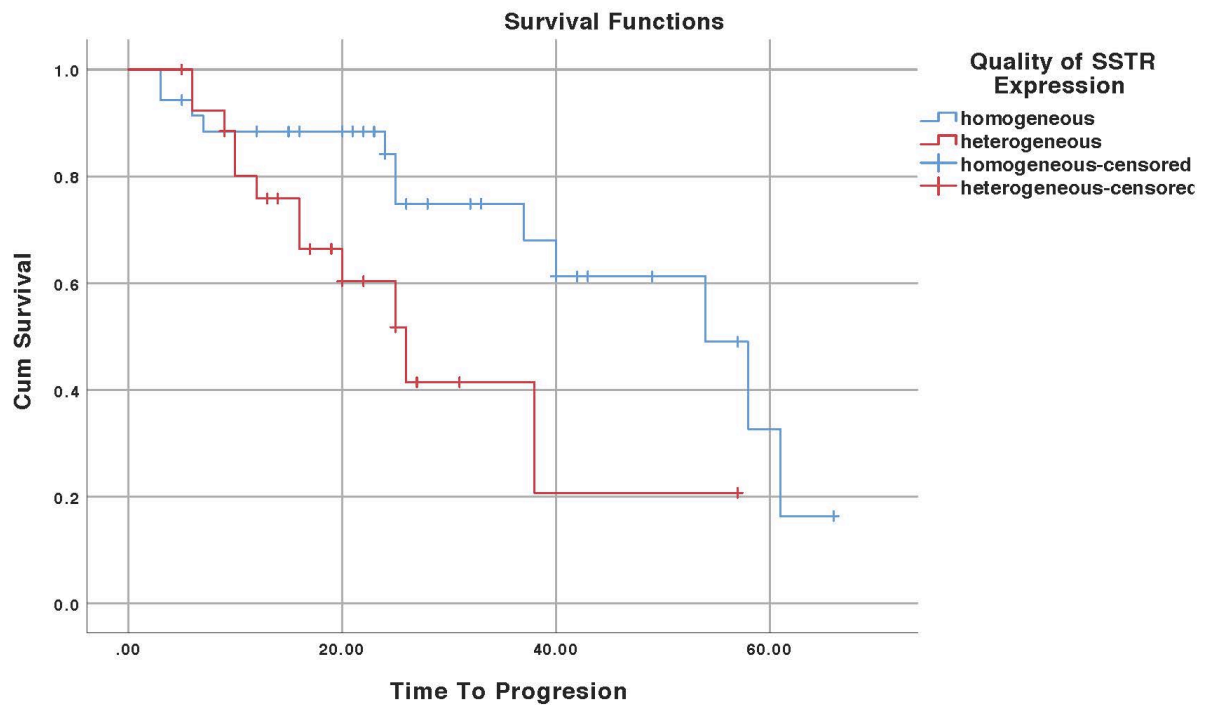


Abbildung 9: Kaplan-Meier-Kurve von Zeit bis zur Progression (TTP), aufgeteilt je nach Qualität der SSTR-Expression. Die mediane TTP für die Untergruppe mit heterogener SSTR-Expression war nur 26 Monate (95% CI: 17,69-34,31 Monate). Für die Untergruppe mit homogener SSTR-Expression betrug der Median 54 Monate (95% CI: 36,54-71,46 Monate)

Adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: **Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

	Anzahl	Progr. ⁽¹⁾	Mediane TTP	Log ⁽²⁾ 95%	Log p	HR ⁽³⁾	Cox 95% CI ⁽⁴⁾	Cox p
Modifizierte Krenning Skala					0.19			
Grad 1 gleich der Leber	9 (14.1%)	4	26	2.43 - 49.57				
Grad 2 höher als Leber	22 (34.4%)	8	54	22.33 - 85.67				
Grad 3 höher als Milz und Niere	33 (51.6%)	13	40	20.03 - 59.68				
Fehlend	1							
Qualität der SSTR ⁽⁵⁾ Expression					0.013	3.09	1.12 - 8.52	0.03
Heterogen	28 (43.08%)	12	26	17.69 - 34.31				
Homogen	35 (53.85%)	12	54	36.54 - 71.46				
Fehlend	2 (3.07%)							

Tabelle 4: Bildcharakteristika und Statistische Analyse der Zeit bis zur Progression (TTP)

Die Tabelle zeigt die Bildcharakteristika und Ergebnisse der Kaplan-Meier- und Cox-Regressionsanalyse der TTP. Alle Dezimalstellen sind auf zwei Nachkommastellen gerundet. Die Qualität der Expression des Somatostatinrezeptors (SSTR) wurde visuell anhand von Baseline PET-CT-Bildern beurteilt. Wenn $\geq 50\%$ der Zielläsionen heterogen sind, wird der Patient der Gruppe „heterogene Expression“ zugeordnet, wenn $< 50\%$ der Zielläsionen heterogen sind, wird der Patient der Gruppe „homogene Expression“ zugeordnet

(1) Progr.: Anzahl der Patienten, die eine Progression zeigten

(2) Log: Logranktest

(3) HR: Hazard Ratio

(4) CI: Konfidenzintervall

(5) SSTR: Somatostatin Rezeptor

Adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: **Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

Therapieform	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit
SSA ⁽¹⁾	33	50.8%
Chemotherapie ⁽²⁾	35	53.9%
Lokale Therapie ⁽³⁾	9	13.9%
Operation	41	63.1%
Zielgerichtete Therapie ⁽⁴⁾	16	24.6%
Radiatio	2	3.0%
Interferon	1	1.5%
LX1606 ⁽⁵⁾	2	3.0%
Keine Vortherapie	4	6.2%

Tabelle 5: Vortherapien und deren Häufigkeit

Es sind alle Therapien aufgezählt, die die Patienten vor der PRRT erhalten haben. Die Prozentangaben sind auf eine Nachkommastelle gerundet.

(1) Somatostatinanalogon

(2) Chemotherapie: Gemcitabine/ Cisplatin+Doxorubicin/ Doxorubicin+Vincristin+Cyclophosphamid/ Streptozotocin+Fluorouracil/ Temozolomid+Capecitabine/ Temozolomid/ Capecitabine/ Cisplatin+Etoposid

(3) Lokale Therapie: transarterielle Chemoembolisation (TACE)/ Transarterielle Embolisation (TAE), Brachytherapie, Portalvenenembolisation, Radiofrequenzablation (RFA), Selektive Interne Radio-Therapie (SIRT)

(4) Zielgerichtete Therapie: Sunitinib/ Vatalanib/ Rituximab/ Everolimus/ Pasireotid+Everolimus

(5) Telotristat ethyl

Adaptiert und übersetzt mit Erlaubnis von: **Springer, European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, Graf J, Pape UF, Jann H, Denecke T, Arsenic R, Brenner W, Pavel M, Prasad V. Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE, © (2019).

4. Diskussion

4.1. Interpretation der Ergebnisse

Häufigkeit der SSTR-Heterogenität

Schon 1990, in der Studie von Reubi et al., wurde mithilfe der Autoradiographie gezeigt, dass Heterogenität des SSTR-Besatzes bei NET vorkommt. Die meisten Gewebeproben der Studie (perkutane Biopsien und Resektionsmaterial aus Operationen) zeigten eine hohe, homogene Verteilung der SSTR-Expression, aber 2 der 62 Proben zeigten einen heterogenen Rezeptorbesatz (46).

In unserer Studie trat bei 43% der Patienten eine heterogene SSTR-Expression in der PET Bildgebung auf. Diese Größenordnung findet sich auch in der Studie von Prasad et al. aus dem Februar 2020, die dieselbe Methode der Heterogenitätsbestimmung verwendet: 36% (9 der 40 Patienten) mit GEP und Lungen-NET zeigten einen heterogenen Typ der SSTR-Expression in der PET-Bildgebung (47).

In der CLARINET FORTE Studie, die auf der ESMO 2020 präsentiert wurde, ist die Häufigkeit des Auftretens von Heterogenität auch vergleichbar: 20 von 48 (41,7%) Patienten mit Pankreas-NET zeigten eine heterogene SSTR-Expression (48). Unter den Patienten mit NET des Jejunum, Ileum, Appendix oder rechtsseitigem Kolon zeigten 22 von 51 (43%) eine heterogene SSTR-Expression (48). Die Daten wurden auf der ESMO präsentiert und bisher ist nur ein Abstrakt erschienen.

Die unterschiedliche Häufigkeit im Auftreten von SSTR-Heterogenität der frühen Studie von Reubi et al. und den neueren Studien könnte mit den unterschiedlichen Einschlusskriterien der Studien zusammenhängen. Während in unserer Studie, in der Studie von Prasad et al. und der Clarinet forte Studie nur Patienten mit fortschreitenden Tumorerkrankungen eingeschlossen wurden, sind die Einschlusskriterien von Reubi et al. nicht klar definiert. Des Weiteren wurden unterschiedliche Methoden der Heterogenitätsmessung verwendet, die noch nicht auf ihre Kongruenz überprüft sind.

Einfluss von SSTR-Heterogenität auf OS und TTP

Das Ziel der vorgestellten Studie war es, prädiktive Faktoren für das Ansprechen auf die PRRT-Behandlung zu evaluieren; insbesondere haben wir die Qualität der SSTR-Expression auf PET/CT-Bildern näher untersucht. Wie im Ergebnisteil deutlich wurde, hat die Qualität der SSTR-Expression einen Einfluss auf das Gesamtüberleben und auf die Zeit bis zur Progression von PRRT-Patienten mit G1-G2 NET.

In beiden vorgenommenen Analysen, der Kaplan Meier Analyse für TTP und OS und in der multivariaten Regressionsanalyse für TTP und OS, zeigte sich die Qualität der SSTR-Expression als signifikanter Einflussfaktor. Patienten mit heterogener SSTR-Expression haben ein 3,7-mal höheres Todesrisiko als Patienten mit homogener SSTR-Expression und ein 3,1-mal höheres Risiko für eine Tumorprogression.

Im Folgenden sollen unsere Ergebnisse in Zusammenhang bereits publizierter Studien erläutert werden.

Bisher wurden in Studien schon verschiedene andere Parameter aus der Bildgebung auf ihre prognostische Wertigkeit geprüft: Zum einen hat sich gezeigt, dass sich eine hohe Traceraufnahme in der Somatostatin-Rezeptor-Bildgebung als prognostischer Marker für den Therapieerfolg eignet (17, 30, 49). Ein Nachteil im Vergleich zur Heterogenitätsbeurteilung ist hierbei, dass nur die SSTR-Expression auf einer Zielläsion berücksichtigt wird. Die alleinige Beurteilung der maximalen Intensität der SSTR-Expression in einem Tumor berücksichtigt dabei nicht die intraläsionale Variation in der Verteilung der Somatostatinrezeptoren innerhalb eines Tumors. In weiteren Studien wurde gezeigt, dass die indirekte Messung des Glukosestoffwechsels durch FDG-PET den Therapieerfolg vorhersagen kann. Der Glukosestoffwechsel hängt aber nur indirekt zusammen mit der SSTR-Expression, dem Angriffspunkt der PRRT, und die Patienten müssen sich einer zusätzlichen FDG-PET / CT unterziehen (50-52).

Es gibt bis jetzt nur zwei weitere Studien und eine veröffentlichte Subgruppenanalyse, die bei NET-Patienten unter PRRT den prognostischen Wert der, in der SSTR-Bildgebung bewerteten, Tumorheterogenität untersuchen (41, 42, 53). Die von Werner et al. 2017 veröffentlichte Studie schloss auch Patienten mit anderen Tumorerkrankungen als NET ein: Die meisten Patienten (76,6%) hatten gastroenteropankreatische NET (einschließlich Bauchspeicheldrüse, Magen, Dünndarm/ Mesenterium und Dickdarm), aber neun Patienten (6,4%) hatten andere Tumorentitäten (einschließlich Meningeom, Hämangioendotheliom, Phäochromozytom, medulläres Schilddrüsenkarzinom und Hypophysentumor) (42). Es war unklar, ob es sich um Patienten handelte, deren Tumorstadium vor der Behandlung als progressiv eingestuft war. Die Ki67-Indizes der Patienten hatten eine große Spannweite (von 1 bis 40%) und die verabreichte Strahlendosis pro Zyklus variierte zwischen 0,9 und 9 GBq. Das Ergebnis der Studie war, dass verschiedene Texturmerkmale der Metastasen in der SSTR-PET/CT für OS und Progressionsfreies Überleben (PFS) in der univariaten Analyse und Cox-Regressionsanalyse Signifikanz zeigten (42). Die Studie bietet somit

einen weiteren Hinweis dafür, dass es für prognostische Überlegungen wichtig sein kann, die Qualität der SSTR-Expression zu bewerten. Die Unterschiedlichkeit in der Methodik und die somit anderen Kriterien für Heterogenität machen es schwierig die Ergebnisse mit unserer Studie zu vergleichen. Die Unterschiedlichkeit der Patienten innerhalb der Studienpopulation kompliziert es, die Ergebnisse klinisch anzuwenden.

Die Subgruppenanalyse von 2018 untersucht nochmal speziell den prognostischen Wert der SSTR-Expression bei 31 Patienten mit Pankreas NET Grad 1 und 2 und fand auch hier Einflüsse von Texturmerkmalen auf OS und TTP (53).

Die Studie von Wetz et al. evaluiert auch den prognostischen Wert der Heterogenität der SSTR-Expression für das Ansprechen auf PRRT bei Patienten mit gastroenteropankreatischen NET (Grad 1 oder Grad 2) (41). Alle eingeschlossenen Patienten hatten progressive, metastasierte Tumorerkrankungen. Abweichend von unserer Studie wird dort als Maß für Heterogenität die „Asphärizität“ verwendet, ein quantitativer Ansatz zur Bewertung der räumlichen Heterogenität, der den Grad der Abweichung von einer perfekten sphärischen Form angibt. Dieser wurde im SPECT/CT mit Hilfe der Software „ROVER Version 2.1.20“ bestimmt.

Eine größere Asphärizität war signifikant mit einem schlechteren Ansprechen der Läsionen auf eine PRRT assoziiert (41). Dies zeigt in die gleiche Richtung wie unsere Ergebnisse, allerdings sind hierbei aufgrund der unterschiedlichen bildgebenden Verfahren (begrenzte räumliche Auflösung der SPECT/CT-Bildgebung vs. PET/CT) und verschiedener Methodik der Heterogenitätserhebung die Ergebnisse schwer vergleichbar. Unsere Studie zeigt erstmals den signifikanten Einfluss der visuell gemessenen Qualität der SSTR-Expression auf die Prognose der NET Patienten unter PRRT.

TTP der gesamten Studienkohorte

In Anerkennung der Tatsache, dass es aufgrund unterschiedlicher Studiendesigns oder unterschiedlicher Therapiekonzepte schwierig ist, unsere Ergebnisse mit anderen Studien zu vergleichen, ist eine mediane TTP von 40 Monaten länger als in anderen Studien, obwohl die Anzahl der Therapiezyklen im Vergleich niedriger war (17, 19, 23, 54, 55). Dies kann auch auf die Reihenfolge der Therapie- und Behandlungsoptionen zurückzuführen sein, die den Patienten in unserem Zentrum angeboten werden, u.a. beinhaltet unsere Studienpopulation auch Patienten, bei denen die PRRT als Erstlinientherapie verwendet wurde.

Andere Einflussfaktoren auf OS und TTP

Bemerkenswert ist, dass in unserer Studie unter allen bekannten relevanten klinischen und pathologischen Parametern die Qualität der SSTR-Expression, die visuell mittels PET/CT bewertet wurde, der einzige signifikante prädiktive und auch prognostische Parameter ist. Andere aus der Literatur bekannte Faktoren, wie etwa Lokalisation des Primärtumors und der Grad des Tumors, die PFS und OS unabhängig voneinander beeinflussen können, zeigten keinen signifikanten Einfluss auf TTP und OS.

Der fehlende Einfluss des Ki67-Index auf die TTP in unserer Patientenpopulation ist vermutlich auf die Tatsache zurückzuführen, dass die Mehrheit der Patienten in der Studie Grad 2 Tumore mit niedrigem Ki67-Indizes hatten und somit die Unterschiede zwischen Grad 1 und Grad 2 Patienten bezüglich des Ki67-Index nicht sehr groß waren. Wichtig ist hier zu bemerken, dass in unserer Studie die Variable „Qualität der SSTR-Expression“ den traditionellen Ki67-Index bezüglich der Vorhersage des Therapieerfolgs durch PRRT bei Patienten mit SSTR-positiven NETs übertrifft:

Das zeigt sich in der Tatsache, dass die gemessene mediane TTP von 54 Monaten für Patienten mit homogener SSTR-Expression in dieser Studie länger ist als das in anderen Studien festgestellte Progressionsfreies Überleben (PFS) für NET Grad 1, das zwischen 40 und 45 Monaten betrug (19, 54, 55). Hier würde der Ki67 Index also eine zu negative Prognose geben.

4.2. Klinische Anwendungen

Die vorgelegte Studie bestätigt die PRRT als erfolgsversprechende Therapie für NET-Patienten mit homogener SSTR-Expression. An dieser Stelle stellt sich nun andererseits die Frage, wie mit Patienten mit heterogener SSTR-Expression therapeutisch umzugehen ist, die, wie diese Studie beweist, auf PRRT-Behandlungen nicht zufriedenstellend ansprechen (TTP bei heterogener SSTR-Expression nur 26 Monate). Es besteht die Notwendigkeit, geeignete, alternative Therapieoptionen zu finden, die man Patienten mit heterogener SSTR-Expression anbieten kann. Es gibt dabei schon einige interessante präklinische Ansätze zur Verbesserung der PRRT, von denen insbesondere Patienten mit heterogenem Rezeptorbesatz profitieren könnten:

Eine Studie, die einen radioaktiv markierten Somatostatin-Antagonist untersucht hat, konnte in vivo und in vitro höhere Strahlendosen messen als mit den herkömmlichen radioaktiv markierten Somatostatin-Agonisten (56). Präklinische Studien, die als Radionuklid einen Alphastrahler verwendeten, zeigten vielversprechende Ergebnisse.

Entsprechende Studien an einigen wenigen Patienten ergaben, dass ein Tumoransprechen auf Alphastrahler bei Patienten bewirkt werden konnte, die resistent gegen Beta-emittierende PRRT geworden sind (57). Eine weitere Idee ist die Kombination von PRRT mit DNA-Reparatur modulierenden Komponenten (hier PARP Inhibitor Olaparib), die in vitro bei menschlichen NET Zellen eine Verstärkung der genotoxischen Effekte auf die Tumorzellen zeigte (58).

Weiteres Verbesserungspotential liegt in der Veränderung der Reihenfolge an Therapien und Kombinationen von mehreren etablierten Therapieformen. Diese Ideen erfordern weitere Untersuchungen in prospektiven Studien: Für Patienten mit ein oder zwei isolierten Metastasen kämen lokoregionale Behandlungen, wie eine Operation oder, falls nicht operabel, einer RFA, TAE oder Brachytherapie in Frage.

Patienten mit disseminierten heterogenen Metastasen könnten von systemischen Therapien wie von einer Chemotherapie, alleine oder in Kombination mit PRRT, profitieren und anschließend erneut für eine PRRT evaluiert werden.

Eine Phase II Studie mit einer Studienkohorte von 47 Patienten mit progressiven metastasierten NETs vergleicht die PRRT-Monotherapie mit der Therapiekombination aus PRRT und Chemotherapie (Capecitabine und Temozolomid)(59). Das Progressionsfreie Überleben war in beiden Kohorten vergleichbar, jedoch zeigte die Kombinationstherapie eine bessere Rate an kompletter und partieller Remission, allerdings unter dem Nachteil einer höheren Toxizität und einer höheren Rate an schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen (59).

Es besteht somit weiterer Forschungsbedarf, um Patienten mit heterogenem SSTR-Expressionstyp mehr evidenzbasierte Therapiestrategien anbieten zu können.

Dies führt nun auch zum nächsten Punkt, in dem weiterführende wissenschaftliche Fragestellungen erläutert werden, die sich aus unseren Ergebnissen ergeben.

4.3. Limitationen und weiterführende wissenschaftliche Fragestellungen

Methodik der SSTR-Heterogenitätsmessung

In den oben genannten Studien (s. 4.1.) wurde jeweils ein halbautomatischer Algorithmus verwendet, um Werte zur Heterogenität der Metastasen in der Bildgebung zu erheben. Diese vorgeschlagenen komplexen mathematischen Berechnungen sind nicht einfach zu replizieren und erschweren die Anwendung der Methode in der klinischen Routine. Zusätzliche Software muss in der Klinik etabliert werden. Ein Vorteil

der softwaregestützten Methodik könnte sein, dass weniger Schwankungen bei unterschiedlichen Messungen bzw. zwischen unterschiedlichen Bewertern auftreten.

Die hier vorgestellte visuelle Beurteilung der Qualität der SSTR-Expression kann jedoch unkompliziert durchgeführt und daher in der täglichen klinischen Praxis leicht angewendet werden. Schwankungen und Interpretationsfehler können vermieden werden, wenn die in unserem Zentrum vorgeschlagene und praktizierte visuelle Methode nicht nur von einem behandelnden Arzt allein durchgeführt wird.

Die Bilder sollten entsprechend von mehreren Ärzten (z.B. im Rahmen in einer multidisziplinären Tumorkonferenz) gesichtet und bewertet werden, damit Fehler bei der visuellen Bewertung möglichst gering gehalten werden. Unser Verfahren der Heterogenitätsbeurteilung hat einige Vorteile, wie die einfache klinische Anwendbarkeit in Tumorboards, aber es bleibt zu überprüfen, ob eine Reproduzierbarkeit des Verfahrens bei unterschiedlichen Bewertern (= Interrater-Reliabilität) gegeben ist. Ein direkter Vergleich der Methoden zur Heterogenitätsmessung wäre sinnvoll, um zu prüfen, ob durch computergestützte Nachbearbeitungstechniken noch mehr nützliche zusätzliche Merkmale aus der Bildgebung extrahiert werden können, als mit dem bloßen Auge wahrgenommen werden können.

In dieser Studie haben wir keine zusätzliche Untersuchung gemacht, welche Grenze (Cut-off Wert) am geeignetsten ist, einen Patienten als homogen oder heterogen zu bezeichnen. Eine Möglichkeit könnte sein, eine Grenzwertoptimierungskurve (Receiver operating characteristics, ROC-Analyse) durchzuführen, um herauszufinden, ob ab einer evtl. geringeren Anzahl an heterogenen Metastasen die Prognose schon signifikant schlechter ist. Dies wäre für eine zukünftige Studie mit einer größeren Patientenpopulation eine sinnvolle Fragestellung. Wichtig ist in diesem Zusammenhang auch, dass zentral nekrotische Läsionen (z. B. nach vorherigen Therapien), die eine ausreichende SSTR- Expression zeigen, nach der PRRT eine homogenere Verteilung zeigen könnten, wenn die Läsion auf die PRRT anspricht. Dies ist sicherlich ein Thema, das weiterer Forschung bedarf. Da in dieser Studie jedoch nur die SSTR-PET / CT zu Studienbeginn erneut analysiert wurde, war es nicht möglich, ein solches Phänomen in unserer Patientenpopulation zu bestätigen oder auszuschließen.

Grad des Tumors vs. Heterogenität

Dreiundachtzig Prozent der Patienten mit Grad 1 und nur 34,7 Prozent der Patienten mit Grad 2 NET zeigten eine heterogene SSTR-Expression (exakte Fisher-Test $p =$

0.003). Dieses Ergebnis muss sorgfältig interpretiert werden, da (a) die große Mehrheit unserer Patienten (78,5%) Grad 2 NET hatten und (b) die Mehrheit von G2 NET Ki67 <10% hatten. Die berechnete Wechselbeziehung zwischen Grad des Tumors und Qualität der SSTR-Expression sollte Teil weiterer Untersuchungen mit mehr Patienten mit Grad 1 Tumoren sein, um herauszufinden ob Metastasen von Grad 1 NETs häufiger zu heterogener SSTR-Expression neigen.

Weitere Limitationen

Eine weitere Limitation dieser Studie ist es, dass Therapien wie z.B. SSAs, Chemotherapie oder mTOR-Inhibitoren, die ein Patient nach der PRRT erhalten hat, in der Datenbank nicht erfasst wurden. Diese könnten aber unabhängig von der Qualität der SSTR-Expression das OS beeinflussen. Schließlich sind das retrospektive Studiendesign sowie die eher kleine Patientenpopulation (n = 65) aus nur einem Zentrum weitere Limitationen. Die Ergebnisse müssen durch eine prospektive multizentrische Studie bestätigt werden.

Grundlagenforschung

Ein weiterer sinnvoller Ansatzpunkt der Forschung wäre es, die genauen biologischen Mechanismen zu untersuchen, die einem schlechteren Therapieergebnis bei Patienten mit heterogener SSTR-Expression zugrunde liegen.

Bei Tumorkläsionen (>2cm) mit inhomogener SSTR-Expression mit unregelmäßiger Form, die mit einer PRRT behandelt werden, kann es durch die kurze Reichweite der Lu-177 Beta-Partikel dazu kommen, dass die Strahlungsabsorptionsdosis innerhalb der Läsion variiert und an bestimmten Orten gering bleiben kann (50).

Auf zellulärer Ebene kann dies bedeuten, dass die DNA-Strangbrüche nicht an allen Orten der Läsion effektiv induziert werden: Die Studie aus dem Januar 2021 von Feijtel et al (60) zeigte, dass bei in vitro und in vivo Experimenten eine heterogene Verteilung der SSTR-Rezeptoren in NETs zu unterschiedlichen Niveaus an DNA-Schäden innerhalb des Tumors führte (60). Der Selektionsdruck und die darauffolgende Dedifferenzierung der übriggebliebenen Zellen ist eine wahrscheinliche Erklärung für ein schlechteres Therapieoutcome bei Patienten mit heterogenem SSTR-Expressionstyp (60). Das Intensivieren der radiobiologischen Grundlagenforschung zur PRRT, die das Verständnis über zelluläre Mechanismen weiter vertieft, könnte somit interessante Ansatzpunkte für die Entwicklung neuer Therapeutika oder die

Verbesserung etablierter Therapieschemata bieten (61).

4.4. Schlussfolgerung

Patienten mit homogener Qualität der SSTR-Expression zeigten in unserer Studie ein signifikant längeres OS und TTP unter PRRT, während Patienten mit heterogener Qualität der SSTR-Expression nicht ausreichend gut auf eine PRRT ansprechen.

Wir schließen daraus, dass die Qualität der SSTR-Expression ein wichtiger Faktor mit Auswirkungen auf OS und TTP bei PRRT Patienten ist. Bei therapeutischen Entscheidungen sollte ein besonderes Augenmerk auf der Qualität der SSTR-Expression liegen.

Wir schließen weiter, dass bei zukünftigen Studien die Qualität der SSTR-Expression als prognostischer und prädiktiver Faktor erfasst werden sollte und die zugrundeliegenden radiobiologischen Mechanismen weiter erforscht werden sollten.

Unsere Ergebnisse sind ein wichtiger Beitrag, um den Erfolg der PRRT beim individuellen Patienten besser vorhersagen zu können, und dadurch Patienten personalisierter und somit besser beraten und behandeln zu können.

Literaturverzeichnis

1. Sgouros G, Bodei L, McDevitt MR, Nedrow JR. Radiopharmaceutical therapy in cancer: clinical advances and challenges. *Nature reviews Drug discovery*. 2020;19(9):589-608.
2. Strosberg J, El-Haddad G, Wolin E, Hendifar A, Yao J, Chasen B, Mitra E, Kunz PL, Kulke MH, Jacene H, Bushnell D, O'Dorisio TM, Baum RP, Kulkarni HR, Caplin M, Lebtahi R, Hobday T, Delpassand E, Van Cutsem E, Benson A, Srirajaskanthan R, Pavel M, Mora J, Berlin J, Grande E, Reed N, Seregni E, Oberg K, Lopera Sierra M, Santoro P, Thevenet T, Erion JL, Ruzsniewski P, Kwekkeboom D, Krenning E. Phase 3 Trial of ¹⁷⁷Lu-Dotatate for Midgut Neuroendocrine Tumors. *The New England journal of medicine*. 2017;376(2):125-35.
3. Rindi G, Petrone G, Inzani F. The 2010 WHO classification of digestive neuroendocrine neoplasms: a critical appraisal four years after its introduction. *Endocrine pathology*. 2014;25(2):186-92.
4. Kulke MH, Mayer RJ. Carcinoid tumors. *The New England journal of medicine*. 1999;340(11):858-68.
5. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2008;26(18):3063-72.
6. Pavel M, Valle JW, Eriksson B, Rinke A, Caplin M, Chen J, Costa F, Falkerby J, Fazio N, Gorbounova V, de Herder W, Kulke M, Lombard-Bohas C, O'Connor J, Sorbye H, Garcia-Carbonero R. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Neoplasms: Systemic Therapy - Biotherapy and Novel Targeted Agents. *Neuroendocrinology*. 2017;105(3):266-80.
7. Shah MH, Goldner WS, Halfdanarson TR, Bergsland E, Berlin JD, Halperin D, Chan J, Kulke MH, Benson AB, 3rd, Blaszkowsky LS, Eads J, Engstrom PF, Fanta P, Giordano T, He J, Heslin MJ, Kalemkerian GP, Kandeel F, Khan SA, Kidwai WZ, Kunz PL, Kuvshinoff BW, 2nd, Lieu C, Pillarisetty VG, Saltz L, Sosa JA, Strosberg JR, Sussman CA, Trikalinos NA, Uboha NA, Whisenant J, Wong T, Yao JC, Burns JL, Ogba N, Zuccarino-Catania G. NCCN Guidelines Insights: Neuroendocrine and Adrenal Tumors, Version 2.2018. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. 2018;16(6):693-702.
8. Grillo F, Valle L, Ferone D, Albertelli M, Brisigotti MP, Cittadini G, Vanoli A, Fiocca R, Mastracci L. Ki-67 heterogeneity in well differentiated gastro-entero-pancreatic neuroendocrine tumors: when is biopsy reliable for grade assessment? *Endocrine*. 2017;57(3):494-502.
9. Yang Z, Tang LH, Klimstra DS. Effect of tumor heterogeneity on the assessment of Ki67 labeling index in well-differentiated neuroendocrine tumors metastatic to the liver: implications for prognostic stratification. *The American journal of surgical pathology*. 2011;35(6):853-60.
10. Nunez-Valdovinos B, Carmona-Bayonas A, Jimenez-Fonseca P, Capdevila J, Castano-Pascual A, Benavent M, Pi Barrio JJ, Teule A, Alonso V, Custodio A, Marazuela M, Segura A, Beguiristain A, Llanos M, Martinez Del Prado MP, Diaz-Perez JA, Castellano D, Sevilla I, Lopez C, Alonso T, Garcia-Carbonero R. Neuroendocrine Tumor Heterogeneity Adds Uncertainty to the World Health Organization 2010 Classification: Real-World Data from the Spanish Tumor Registry (R-GETNE). *The oncologist*. 2018;23(4):422-32.

11. Alvarez MJ, Subramaniam PS, Tang LH, Grunn A, Aburi M, Rieckhof G, Komissarova EV, Hagan EA, Bodei L, Clemons PA, Dela Cruz FS, Dhall D, Diolaiti D, Fraker DA, Ghavami A, Kaemmerer D, Karan C, Kidd M, Kim KM, Kim HC, Kunju LP, Langel U, Li Z, Lee J, Li H, LiVolsi V, Pfragner R, Rainey AR, Realubit RB, Remotti H, Regberg J, Roses R, Rustgi A, Sepulveda AR, Serra S, Shi C, Yuan X, Barberis M, Bergamaschi R, Chinnaiyan AM, Detre T, Ezzat S, Frilling A, Hommann M, Jaeger D, Kim MK, Knudsen BS, Kung AL, Leahy E, Metz DC, Milsom JW, Park YS, Reidy-Lagunes D, Schreiber S, Washington K, Wiedenmann B, Modlin I, Califano A. A precision oncology approach to the pharmacological targeting of mechanistic dependencies in neuroendocrine tumors. *Nature genetics*. 2018.
12. [Practice guideline neuroendocrine tumors - AWMF-Reg. 021-27]. *Zeitschrift fur Gastroenterologie*. 2018;56(6):583-681.
13. Frilling A, Modlin IM, Kidd M, Russell C, Breitenstein S, Salem R, Kwekkeboom D, Lau WY, Klersy C, Vilgrain V, Davidson B, Siegler M, Caplin M, Solcia E, Schilsky R. Recommendations for management of patients with neuroendocrine liver metastases. *The Lancet Oncology*. 2014;15(1):e8-21.
14. Mizutani G, Nakanishi Y, Watanabe N, Honma T, Obana Y, Seki T, Ohni S, Nemoto N. Expression of Somatostatin Receptor (SSTR) Subtypes (SSTR-1, 2A, 3, 4 and 5) in Neuroendocrine Tumors Using Real-time RT-PCR Method and Immunohistochemistry. *Acta histochemica et cytochemica*. 2012;45(3):167-76.
15. Poeppel TD, Boy C, Bockisch A, Kotzerke J, Buchmann I, Ezziddin S, Scheidhauer K, Krause BJ, Schmidt D, Amthauer H, Rösch F, Nagarajah J, Führer D, Lahner H, Pöpperl G, Hörsch D, Walter MA, Baum RP. [Peptide receptor radionuclide therapy for patients with somatostatin receptor expressing tumours. German Guideline (S1)]. *Nuklearmedizin Nuclear medicine*. 2015;54(1):1-11; quiz N2.
16. Krenning EP, Kooij PP, Bakker WH, Breeman WA, Postema PT, Kwekkeboom DJ, Oei HY, de Jong M, Visser TJ, Reijs AE, et al. Radiotherapy with a radiolabeled somatostatin analogue, [¹¹¹In-DTPA-D-Phe¹]-octreotide. A case history. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1994;733:496-506.
17. Kwekkeboom DJ, de Herder WW, Kam BL, van Eijck CH, van Essen M, Kooij PP, Feelders RA, van Aken MO, Krenning EP. Treatment with the radiolabeled somatostatin analog [¹⁷⁷Lu-DOTA 0,Tyr³]octreotate: toxicity, efficacy, and survival. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2008;26(13):2124-30.
18. Bodei L, Cremonesi M, Grana CM, Fazio N, Iodice S, Baio SM, Bartolomei M, Lombardo D, Ferrari ME, Sansovini M, Chinol M, Paganelli G. Peptide receptor radionuclide therapy with (¹⁷⁷Lu)-DOTATATE: the IEO phase I-II study. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2011;38(12):2125-35.
19. Horsch D, Ezziddin S, Haug A, Gratz KF, Dunkelmann S, Miederer M, Schreckenberger M, Krause BJ, Bengel FM, Bartenstein P, Biersack HJ, Popperl G, Baum RP. Effectiveness and side-effects of peptide receptor radionuclide therapy for neuroendocrine neoplasms in Germany: A multi-institutional registry study with prospective follow-up. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2016;58:41-51.
20. Imhof A, Brunner P, Marincek N, Briel M, Schindler C, Rasch H, Macke HR, Rochlitz C, Muller-Brand J, Walter MA. Response, survival, and long-term toxicity after therapy with the radiolabeled somatostatin analogue [⁹⁰Y-DOTA]-TOC in metastasized neuroendocrine cancers. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2011;29(17):2416-23.

21. Valkema R, De Jong M, Bakker WH, Breeman WA, Kooij PP, Lugtenburg PJ, De Jong FH, Christiansen A, Kam BL, De Herder WW, Stridsberg M, Lindemans J, Ensing G, Krenning EP. Phase I study of peptide receptor radionuclide therapy with [In-DTPA]octreotide: the Rotterdam experience. *Seminars in nuclear medicine*. 2002;32(2):110-22.
22. Delpassand ES, Samarghandi A, Zamanian S, Wolin EM, Hamiditabar M, Espenan GD, Erion JL, O'Dorisio TM, Kvols LK, Simon J, Wolfangel R, Camp A, Krenning EP, Mojtahedi A. Peptide receptor radionuclide therapy with ¹⁷⁷Lu-DOTATATE for patients with somatostatin receptor-expressing neuroendocrine tumors: the first US phase 2 experience. *Pancreas*. 2014;43(4):518-25.
23. Baum RP, Kluge AW, Kulkarni H, Schorr-Neufing U, Niepsch K, Bitterlich N, van Echteld CJ. [(177)Lu-DOTA](0)-D-Phe(1)-Tyr(3)-Octreotide ((177)Lu-DOTATOC) For Peptide Receptor Radiotherapy in Patients with Advanced Neuroendocrine Tumours: A Phase-II Study. *Theranostics*. 2016;6(4):501-10.
24. Sansovini M, Severi S, Ambrosetti A, Monti M, Nanni O, Sarnelli A, Bodei L, Garaboldi L, Bartolomei M, Paganelli G. Treatment with the radiolabelled somatostatin analog Lu-DOTATATE for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology*. 2013;97(4):347-54.
25. Krenning EP, Kwekkeboom DJ, Bakker WH, Breeman WA, Kooij PP, Oei HY, van Hagen M, Postema PT, de Jong M, Reubi JC, et al. Somatostatin receptor scintigraphy with [111In-DTPA-D-Phe1]- and [123I-Tyr3]-octreotide: the Rotterdam experience with more than 1000 patients. *European journal of nuclear medicine*. 1993;20(8):716-31.
26. Strosberg JR, Halfdanarson TR, Bellizzi AM, Chan JA, Dillon JS, Heaney AP, Kunz PL, O'Dorisio TM, Salem R, Segelov E, Howe JR, Pommier RF, Brendtro K, Bashir MA, Singh S, Soulen MC, Tang L, Zacks JS, Yao JC, Bergsland EK. The North American Neuroendocrine Tumor Society Consensus Guidelines for Surveillance and Medical Management of Midgut Neuroendocrine Tumors. *Pancreas*. 2017;46(6):707-14.
27. Pavel M, O'Toole D, Costa F, Capdevila J, Gross D, Kianmanesh R, Krenning E, Knigge U, Salazar R, Pape UF, Oberg K. ENETS Consensus Guidelines Update for the Management of Distant Metastatic Disease of Intestinal, Pancreatic, Bronchial Neuroendocrine Neoplasms (NEN) and NEN of Unknown Primary Site. *Neuroendocrinology*. 2016;103(2):172-85.
28. Kwekkeboom DJ, Krenning EP, Lebtahi R, Komminoth P, Kos-Kudla B, de Herder WW, Plockinger U. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: peptide receptor radionuclide therapy with radiolabeled somatostatin analogs. *Neuroendocrinology*. 2009;90(2):220-6.
29. Pavel M, Öberg K, Falconi M, Krenning EP, Sundin A, Perren A, Berruti A. Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. 2020;31(7):844-60.
30. Haug AR, Auernhammer CJ, Wängler B, Schmidt GP, Uebleis C, Göke B, Cumming P, Bartenstein P, Tiling R, Hacker M. ⁶⁸Ga-DOTATATE PET/CT for the early prediction of response to somatostatin receptor-mediated radionuclide therapy in patients with well-differentiated neuroendocrine tumors. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2010;51(9):1349-56.
31. Valkema R, Pauwels S, Kvols LK, Barone R, Jamar F, Bakker WH, Kwekkeboom DJ, Bouterfa H, Krenning EP. Survival and response after peptide receptor radionuclide therapy with [90Y-DOTA0,Tyr3]octreotide in patients with advanced

- gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Seminars in nuclear medicine*. 2006;36(2):147-56.
32. Prasad V, Bodei L, Kidd M, Modlin IM. Whither peptide receptor radionuclide therapy for neuroendocrine tumors: an Einsteinian view of the facts and myths. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2014;41(10):1825-30.
 33. Grzywa TM, Paskal W, Wlodarski PK. Intratumor and Intertumor Heterogeneity in Melanoma. *Translational oncology*. 2017;10(6):956-75.
 34. Marusyk A, Polyak K. Tumor heterogeneity: causes and consequences. *Biochimica et biophysica acta*. 2010;1805(1):105-17.
 35. Liu J, Dang H, Wang XW. The significance of intertumor and intratumor heterogeneity in liver cancer. *Experimental & molecular medicine*. 2018;50(1):e416.
 36. Saber A, Hiltermann TJN, Kok K, Terpstra MM, de Lange K, Timens W, Groen HJM, van den Berg A. Mutation patterns in small cell and non-small cell lung cancer patients suggest a different level of heterogeneity between primary and metastatic tumors. *Carcinogenesis*. 2017;38(2):144-51.
 37. Puram SV, Tirosh I, Parikh AS, Patel AP, Yizhak K, Gillespie S, Rodman C, Luo CL, Mroz EA, Emerick KS, Deschler DG, Varvares MA, Mylvaganam R, Rozenblatt-Rosen O, Rocco JW, Faquin WC, Lin DT, Regev A, Bernstein BE. Single-Cell Transcriptomic Analysis of Primary and Metastatic Tumor Ecosystems in Head and Neck Cancer. *Cell*. 2017;171(7):1611-24.e24.
 38. Ellsworth RE, Blackburn HL, Shriver CD, Soon-Shiong P, Ellsworth DL. Molecular heterogeneity in breast cancer: State of the science and implications for patient care. *Seminars in cell & developmental biology*. 2017;64:65-72.
 39. Charoenpitakchai M, Liu E, Zhao Z, Koyama T, Huh WJ, Berlin J, Hande K, Walker R, Shi C. In liver metastases from small intestinal neuroendocrine tumors, SSTR2A expression is heterogeneous. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*. 2017;470(5):545-52.
 40. Werner RA, Bundschuh RA, Bundschuh L, Javadi MS, Higuchi T, Weich A, Sheikhbahaei S, Pienta KJ, Buck AK, Pomper MG, Gorin MA, Lapa C, Rowe SP. Molecular imaging reporting and data systems (MI-RADS): a generalizable framework for targeted radiotracers with theranostic implications. *Annals of nuclear medicine*. 2018;32(8):512-22.
 41. Wetz C, Apostolova I, Steffen IG, Hofheinz F, Furth C, Kupitz D, Ruf J, Venerito M, Klose S, Amthauer H. Predictive Value of Asphericity in Pretherapeutic [(111)In]DTPA-Octreotide SPECT/CT for Response to Peptide Receptor Radionuclide Therapy with [(177)Lu]DOTATATE. *Molecular imaging and biology : MIB : the official publication of the Academy of Molecular Imaging*. 2017;19(3):437-45.
 42. Werner RA, Lapa C, Ilhan H, Higuchi T, Buck AK, Lehner S, Bartenstein P, Bengel F, Schatka I, Muegge DO, Papp L, Zsótér N, Große-Ophoff T, Essler M, Bundschuh RA. Survival prediction in patients undergoing radionuclide therapy based on intratumoral somatostatin-receptor heterogeneity. *Oncotarget*. 2017;8(4):7039-49.
 43. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2009;45(2):228-47.
 44. Bodei L, Mueller-Brand J, Baum RP, Pavel ME, Horsch D, O'Dorisio MS, O'Dorisio TM, Howe JR, Cremonesi M, Kwekkeboom DJ, Zaknun JJ. The joint IAEA, EANM, and SNMMI practical guidance on peptide receptor radionuclide therapy

- (PRRNT) in neuroendocrine tumours. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2013;40(5):800-16.
45. Virgolini I, Ambrosini V, Bomanji JB, Baum RP, Fanti S, Gabriel M, Papathanasiou ND, Pepe G, Oyen W, De Cristoforo C, Chiti A. Procedure guidelines for PET/CT tumour imaging with ⁶⁸Ga-DOTA-conjugated peptides: ⁶⁸Ga-DOTA-TOC, ⁶⁸Ga-DOTA-NOC, ⁶⁸Ga-DOTA-TATE. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2010;37(10):2004-10.
46. Reubi JC, Kvolts LK, Waser B, Nagorney DM, Heitz PU, Charboneau JW, Reading CC, Moertel C. Detection of somatostatin receptors in surgical and percutaneous needle biopsy samples of carcinoids and islet cell carcinomas. *Cancer research*. 1990;50(18):5969-77.
47. Prasad V, Srirajaskanthan R, Toumpanakis C, Grana CM, Baldari S, Shah T, Lamarca A, Courbon F, Scheidhauer K, Baudin E, Truong Thanh XM, Houchard A, Dromain C, Bodei L. Lessons from a multicentre retrospective study of peptide receptor radionuclide therapy combined with lanreotide for neuroendocrine tumours: a need for standardised practice. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2020;47(10):2358-71.
48. P. Ruzsniowski JĆ, C. Lombard-Bohas, I. Borbath, T. Shah, U.-F. Pape, X.-M. Truong Thanh, A. Houchard, M.E. Pavel. 1388P - Baseline characteristics from CLARINET FORTE: Evaluating lanreotide autogel (LAN) 120mg every 14 days in patients with progressive pancreatic or midgut neuroendocrine tumours during a standard first-line LAN regimen. *Annals of Oncology*. 2019;30:v567 - v8.
49. Öksüz M, Winter L, Pfannenbergl C, Reischl G, Müssig K, Bares R, Dittmann H. Peptide receptor radionuclide therapy of neuroendocrine tumors with (90)Y-DOTATOC: is treatment response predictable by pre-therapeutic uptake of (68)Ga-DOTATOC? *Diagnostic and interventional imaging*. 2014;95(3):289-300.
50. Oh S, Prasad V, Lee DS, Baum RP. Effect of Peptide Receptor Radionuclide Therapy on Somatostatin Receptor Status and Glucose Metabolism in Neuroendocrine Tumors: Intraindividual Comparison of Ga-68 DOTANOC PET/CT and F-18 FDG PET/CT. *International journal of molecular imaging*. 2011;2011:524130.
51. Kayani I, Bomanji JB, Groves A, Conway G, Gacinovic S, Win T, Dickson J, Caplin M, Ell PJ. Functional imaging of neuroendocrine tumors with combined PET/CT using ⁶⁸Ga-DOTATATE (DOTA-DPhe1,Tyr3-octreotate) and ¹⁸F-FDG. *Cancer*. 2008;112(11):2447-55.
52. Ezziddin S, Adler L, Sabet A, Pöppel TD, Grabellus F, Yüce A, Fischer HP, Simon B, Höller T, Biersack HJ, Nagarajah J. Prognostic stratification of metastatic gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms by ¹⁸F-FDG PET: feasibility of a metabolic grading system. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2014;55(8):1260-6.
53. Werner RA, Ilhan H, Lehner S, Papp L, Zsoter N, Schatka I, Muegge DO, Javadi MS, Higuchi T, Buck AK, Bartenstein P, Bengel F, Essler M, Lapa C, Bundschuh RA. Pre-therapy Somatostatin Receptor-Based Heterogeneity Predicts Overall Survival in Pancreatic Neuroendocrine Tumor Patients Undergoing Peptide Receptor Radionuclide Therapy. *Molecular imaging and biology : MIB : the official publication of the Academy of Molecular Imaging*. 2018.
54. Ezziddin S, Khalaf F, Vanezi M, Haslerud T, Mayer K, Al Zreiqat A, Willinek W, Biersack HJ, Sabet A. Outcome of peptide receptor radionuclide therapy with ¹⁷⁷Lu-octreotate in advanced grade 1/2 pancreatic neuroendocrine tumours. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2014;41(5):925-33.

55. Sabet A, Dautzenberg K, Haslerud T, Aouf A, Sabet A, Simon B, Mayer K, Biersack HJ, Ezziddin S. Specific efficacy of peptide receptor radionuclide therapy with (177)Lu-octreotate in advanced neuroendocrine tumours of the small intestine. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2015;42(8):1238-46.
56. Dalm SU, Nonnekens J, Doeswijk GN, de Blois E, van Gent DC, Konijnenberg MW, de Jong M. Comparison of the Therapeutic Response to Treatment with a 177Lu-Labeled Somatostatin Receptor Agonist and Antagonist in Preclinical Models. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2016;57(2):260-5.
57. Navalkisoor S, Grossman A. Targeted Alpha Particle Therapy for Neuroendocrine Tumours: The Next Generation of Peptide Receptor Radionuclide Therapy. *Neuroendocrinology*. 2019;108(3):256-64.
58. Nonnekens J, van Kranenburg M, Beerens CE, Suker M, Doukas M, van Eijck CH, de Jong M, van Gent DC. Potentiation of Peptide Receptor Radionuclide Therapy by the PARP Inhibitor Olaparib. *Theranostics*. 2016;6(11):1821-32.
59. Pavlakis N, Ransom DT, Wyld D, Sjoquist KM, Asher R, GebSKI V, Wilson K, Kiberu AD, Burge ME, Macdonald W, Roach P, Pattison DA, Butler P, Price TJ, Michael M, Lawrence BJ, Bailey DL, Leyden JC, Zalcburg JR, Turner JH. First results for Australasian Gastrointestinal Trials Group (AGITG) control net study: Phase II study of 177Lu-octreotate peptide receptor radionuclide therapy (LuTate PRRT) +/- capecitabine, temozolomide (CAPTEM) for midgut neuroendocrine tumors (mNETs). *Journal of Clinical Oncology*. 2020;38(4_suppl):604-.
60. Feijtel D, Doeswijk GN, Verkaik NS, HaecK JC, Chicco D, Angotti C, Konijnenberg MW, de Jong M, Nonnekens J. Inter and intra-tumor somatostatin receptor 2 heterogeneity influences peptide receptor radionuclide therapy response. *Theranostics*. 2021;11(2):491-505.
61. Terry SYA, Nonnekens J, Aerts A, Baatout S, de Jong M, Cornelissen B, Pouget JP. Call to arms: need for radiobiology in molecular radionuclide therapy. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2019;46(8):1588-90.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Josephine Graf, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: “Heterogenität der Somatostatinrezeptor-Expression als prognostischer und prädiktiver Faktor für Patienten mit progressiven neuroendokrinen Tumoren unter Peptidradiorezeptor-Therapie”, auf Englisch: “Heterogeneity of somatostatin receptor expression as a prognostic and predictive factor for patients with progressive neuroendocrine tumours under peptide radioreceptor therapy” selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Josephine Graf hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Publikation: Josephine Graf, Ulrich-Frank Pape, Henning Jann, Timm Denecke, Ruza Arsenic, Winfried Brenner, Marianne Pavel, Vikas Prasad; Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE. European journal of nuclear medicine and molecular imaging. 2020;47(4):881-94.

Beitrag im Einzelnen:

Ausarbeitung einer Forschungsfrage

Ich habe in Zusammenarbeit mit meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Vikas Prasad das Thema der Promotion erarbeitet, eine Fragestellung für die Studie festgelegt und zu erhebende Variablen festgelegt. Das Studiendesign habe ich in Abbildung 1 grafisch dargestellt.

Ethikantrag

Ich habe einen Ethikantrag formuliert und bei der Ethikkommission der Charité eingereicht.

Erstellung der Datenbank

Ich habe eine anonymisierte Datenbank in Excel erstellt und alle notwendigen Informationen aus der klinikinternen Datenbank und den digitalen Patientenakten herausgesucht und bei Unstimmigkeiten mit den behandelnden Ärzten besprochen. Die Datenbank habe ich zur statistischen Analyse in SPSS übertragen.

Auswertung der PET-CT Bilder

Ich habe eigenständig die Qualität der SSTR- Expression auf PET/CT-Bilder ausgewertet, welche zur besseren Validierung zusätzlich von meinem Doktorvater analysiert wurden.

Statistische Analyse

Ich habe eigenständig die deskriptive Statistik, sowie die univariaten Analysen und multivariaten Regressionsanalysen mit SPSS erstellt und analysiert. Die Ergebnisse der Statistik habe ich in Abbildung 2-5 der Publikation grafisch dargestellt. Ebenfalls erstellt habe ich die Tabellen 1-4, in der die Ergebnisse meiner Analysen im Detail zu finden sind.

Verfassung des Manuskripts

In der Diskussion habe ich meine Ergebnisse in den aktuellen Forschungskontext gestellt und zukünftige Forschungsfragen herausgearbeitet. Die Limitationen der Publikation habe ich ebenfalls eigenständig herausgearbeitet. Die Verfassung des Textes erfolgte eigenständig durch mich mit Beratung durch meinen Doktorvater Prof. Dr. med. Vikas Prasad. Die Nebenaufgaben halfen mir bei der Korrektur des finalen Textes.

Veröffentlichung und Revision

Die Veröffentlichung und die Revision der Publikation habe ich eigenständig durchgeführt. Während allen Arbeitsschritten erfolgten Rücksprachen mit Prof. Dr. med. Vikas Prasad.

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2017** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **“RADIOLOGY, NUCLEAR MEDICINE and MEDICAL IMAGING”** Selected Category Scheme: WoS
Gesamtanzahl: 128 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	JACC-Cardiovascular Imaging	8,104	10.247	0.026360
2	European Heart Journal- Cardiovascular Imaging	4,630	8.336	0.020640
3	EUROPEAN JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE AND MOLECULAR IMAGING	14,983	7.704	0.024870
4	RADIOLOGY	54,109	7.469	0.063710
5	JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE	27,101	7.439	0.037560
6	CLINICAL NUCLEAR MEDICINE	4,756	6.281	0.006950
7	INVESTIGATIVE RADIOLOGY	6,486	6.224	0.012410
8	Circulation-Cardiovascular Imaging	5,438	6.221	0.020160
9	IEEE TRANSACTIONS ON MEDICAL IMAGING	17,837	6.131	0.024200
10	ULTRASOUND IN OBSTETRICS & GYNECOLOGY	12,420	5.654	0.018820
11	INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION ONCOLOGY BIOLOGY PHYSICS	46,595	5.554	0.055060
12	JOURNAL OF CARDIOVASCULAR MAGNETIC RESONANCE	4,918	5.457	0.013530
13	NEUROIMAGE	92,719	5.426	0.152610
14	MEDICAL IMAGE ANALYSIS	6,383	5.356	0.011900
15	RADIOTHERAPY AND ONCOLOGY	17,184	4.942	0.027840
16	HUMAN BRAIN MAPPING	20,334	4.927	0.042810
17	SEMINARS IN NUCLEAR MEDICINE	2,285	4.558	0.002990
18	ULTRASCHALL IN DER MEDIZIN	2,201	4.389	0.004310
19	MAGNETIC RESONANCE IN MEDICINE	31,440	4.082	0.034130
20	EUROPEAN RADIOLOGY	18,615	4.027	0.034120
20	SEMINARS IN RADIATION ONCOLOGY	2,480	4.027	0.003620
22	JOURNAL OF NUCLEAR CARDIOLOGY	3,508	3.847	0.004120
23	AMERICAN JOURNAL OF NEURORADIOLOGY	22,667	3.653	0.029840
24	JOURNAL OF MAGNETIC RESONANCE IMAGING	16,398	3.612	0.027440
25	MOLECULAR IMAGING AND BIOLOGY	2,415	3.608	0.005480

Druckexemplar der ausgewählten Publikation



Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE

Josephine Graf¹ · Ulrich-Frank Pape² · Henning Jann² · Timm Denecke³ · Ruza Arsenic⁴ · Winfried Brenner¹ · Marianne Pavel^{2,5} · Vikas Prasad^{1,6} 

Received: 28 December 2018 / Accepted: 11 July 2019
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

Abstract

Aim One of the primary prerequisites for peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) in patients with neuroendocrine tumors (NET) is the presence of somatostatin receptors (SSTR) on NET cells. NET are highly heterogeneous and an individual patient as well as separate metastases can harbor cells with different clones, which influence the SSTR expression on NET cells. With this background we looked into our institutional database to assess the prognostic significance of quality of SSTR expression on SSTR PET/CT imaging in patients treated with at least two cycles of Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE.

Method Clinical reports and images from 65 (25 females, 40 males; 65 ± 11 years old) patients with progressive grade 1 or grade 2 NET with 2–5 therapy cycles of PRRT with an average administered dose of 6.6 ± 0.97 GBq Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE were analyzed. All patients were examined with baseline Ga-68 DOTATATE or Ga-68 DOTATOC PET/CT (PET). Quality of SSTR expression as a measure of heterogeneity on indexed lesions was assessed visually. Patients were followed for a median duration of 25 months after the first PRRT (range 5–77 months).

Results A total of 70% of the patients received three or more therapy cycles. Twenty-six patients (40%) were treated with PRRT as first or second line while 39 (60%) as third line or more. SSTR expression was heterogeneous in 28 (44.4%) and homogeneous in 35 (55.6%) patients. Disease stabilization could be achieved in 23 patients (35.4%), whereas 17 (26.1%) showed partial remission and 25 patients (38.5%) had disease progression. Median OS was not reached. The 24-month survival rate of the whole study cohort was 83%. In univariate analyses, factors influencing OS were carcinoid heart disease, carcinoid syndrome and quality of SSTR expression ($p < 0.05$). Patients with heterogeneous SSTR expression on target lesions had a significantly lower OS ($p = 0.01$). Median time to progression in total patient population was found to be 40 months. Patients with heterogeneous SSTR expression on target lesions had significantly lower TTP (26 months vs 54 months log Rank $p = 0.013$). By multivariate analyses, quality of SSTR was found to be the only prognostic factor for OS ($p = 0.04$; HR = 3.68) and also for TTP ($p = 0.03$; HR = 3.09).

Conclusion Visual assessment of SSTR heterogeneity has both predictive and prognostic value in progressive grade 1 or grade 2 NET patients undergoing PRRT.

Keywords PRRT · NET · Heterogeneity · SSTR · PET

This article is part of the Topical Collection on Oncology–General.

✉ Vikas Prasad
drvikaspd@yahoo.com

Josephine Graf
Josephine.graf@charite.de

¹ Department of Nuclear Medicine, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

² Department of Hepatology and Gastroenterology, Campus Charité Mitte and Virchow Clinic, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

³ Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

⁴ Institute of Pathology, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

⁵ Division of Endocrinology, Department of Internal Medicine, Endocrinology, Friedrich-Alexander Universität Erlangen, Erlangen, Germany

⁶ Department of Nuclear Medicine, Universitätsklinikum Ulm, Ulm, Germany

Background

Neuroendocrine neoplasms (NEN) subclassified into less aggressive neuroendocrine tumors (NET) and aggressive neuroendocrine carcinomas (NEC) are a heterogeneous rare group of tumors arising from diffuse endocrine cells of endodermal origin [1, 2]. According to WHO, NET are graded according to their Ki67 index [3]. Several previous studies have shown that Ki67 is not only a prognostic but also a predictive marker, which is why treatment strategies in international guidelines, e.g. guidelines of European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS) or the National Comprehensive Cancer Network (NCCN), are mostly centered around Ki67 [4]. Even though the Ki67 index is most commonly used for grading NETs worldwide, it is subject to sampling error because the Ki67 index is not uniform everywhere in the tumor and the metastases [5, 6]. Additionally, primary tumor and their metastases due to vast genetic heterogeneity may have different clones, which influence the grading and differentiation [7].

This vast genetic and phenotypic variability in and amongst metastatic lesions partially explains the fact that cure is rarely possible in systemic metastasized NET patients [8, 9]. Partial remission (PR) rates generally do not exceed 10% with targeted drugs and 30–40% with chemotherapy or PRRT [9]. This relatively limited control of the disease might be due to differential expression of targets on tumor lesions or due to inherent or acquired insensitivity to the respective drug [9]. Peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) targeting somatostatin receptors (SSTR) overexpressed on NET is one of the mainstays of treatment strategies especially in a palliative situation [10–18]. The recently published prospective phase III study (NETTER-1) has clearly shown the superiority of Lu-177 DOTATATE over the control group treated with high dose octreotide in small intestinal NET [19]. However, even with PRRT, despite achieving cumulative absorbed doses up to 250 Gy within one tumor lesion, the objective response rate is less than satisfactory [20].

Research on other tumor entities has shown that intratumoral heterogeneity is observed widely and is an important topic for therapy optimization [21–26]. The term intratumoral heterogeneity describes the variety of cells with different characteristics within one tumor. The tumor cells of a patient can have different characteristics regarding their genome, epigenome and transcriptome, and therefore, they can show differences in metabolism, proliferation and metastatic potential; the aforementioned molecular characteristics in turn can result in clonal selection when treated with drugs against only one particular target [27].

Differences of cell characteristics within one metastasis are defined as intrametastatic heterogeneity. In NETs SSTR expression can be variable within one individual metastasis [28]. This intrametastatic heterogeneity in SSTR expression can be imaged by Ga-68-DOTATOATE or -DOTATOC-PET-imaging [29].

With this background, the aim of this study was to assess the impact of global SSTR heterogeneity on the overall survival (OS) and time to progression (TTP) of NET patients undergoing PRRT.

Materials and methods

This study is a retrospective data and image analysis of patients with neuroendocrine tumors who were treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE PRRT at the Charité Universitätsmedizin Berlin, an ENETS Centre of Excellence, between 07/2011 and 12/2016. Our institutional ethics committee (Charité's Ethics Committee) approved this study. All patients consented to the use of their anonymised data for research purposes and agreed to the publication of the manuscript.

Database generation

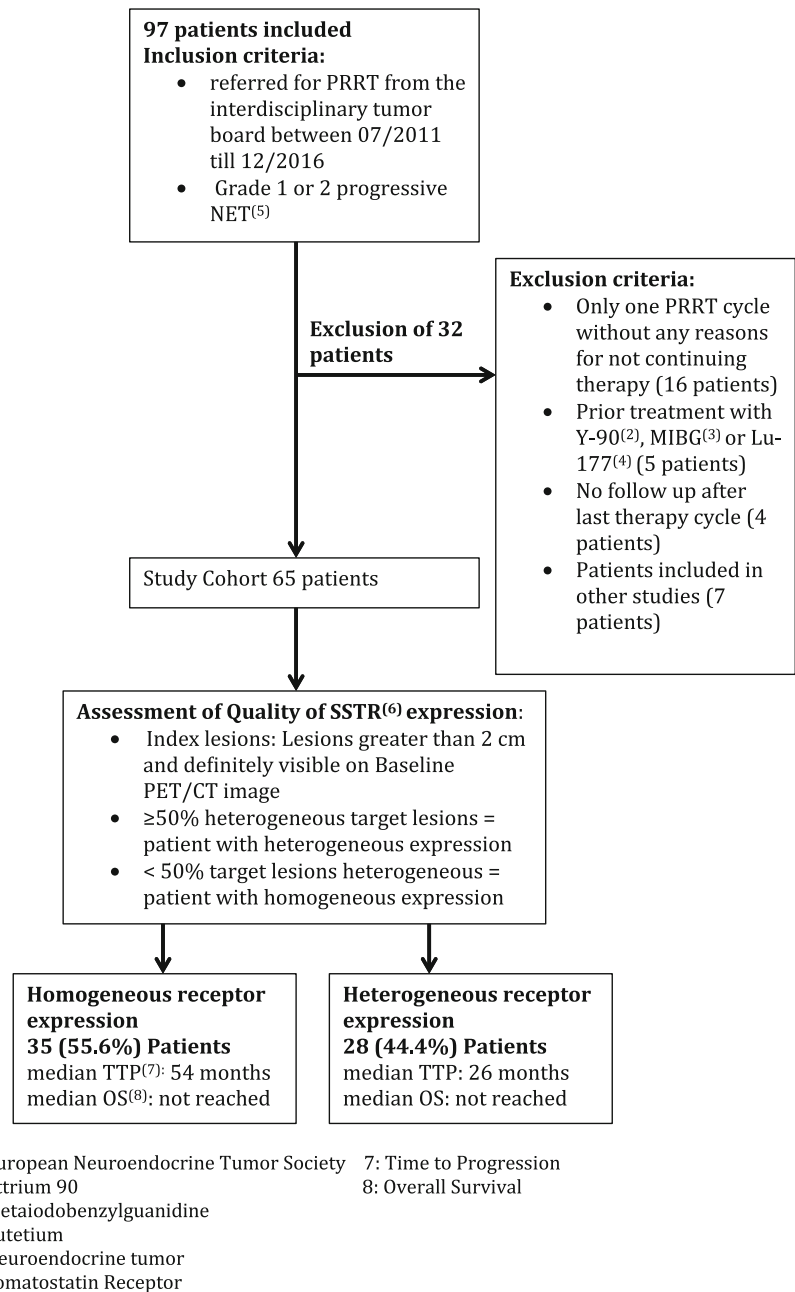
A database was established containing patients' epidemiological, tumor and clinical characteristics. Information was extracted from the protocols of our multidisciplinary tumor board (MDTB) and supplemented with information from medical reports of the diagnosing and treating departments (gastroenterology, radiology, nuclear medicine).

Items included in the database were: sex, age (age was stratified as >50 years of age and <50 years), the presence of carcinoid syndrome, primary site of the tumor, therapy line, therapies before and after PRRT, SSA therapy, number and date of therapy cycles, dosage of PRRT, date of death and date of progression. Additionally, response after last PRRT, based on RECIST 1.1 criteria was recorded in the database [30]. RECIST 1.1 evaluations were independently performed during the clinical routine by physicians of the MDTB, including a radiologist with more than 15 years experience on CT/MRI and a nuclear medicine physician with more than 10 years experience in the field of NET; only in cases of discrepancy or where there was no clear documentation on RECIST in the tumor board were the patients' images reanalyzed for this study. Every patients' baseline PET CT image was examined with the intention to assess the quality of SSTR expression as explained below.

Study design

The study design is charted in Fig. 1. The inclusion criteria were: (1) patients referred for PRRT from the MDTB between 07/2011 and 12/2016, and (2) patients with grade 1 and grade 2 progressive NET (based on RECIST 1.1 criteria). Patients with grade 3 NEN (mostly NEC) were therefore excluded. According to the ENETS guidelines during the time of the study, PRRT was not recommended for Grade 3 NET. There

Fig. 1 Gives a graphic representation of the study design



were very few G3 NET patients who were offered PRRT purely on compassionate grounds [31]. Further, the number of patients in this subgroup was too low to make any meaningful conclusion out of the patients' cohort in a multifactorial analyses, therefore we refrained from including G3 NET in our manuscript.

A total of 97 patients (25 female, 40 male; 65 ±11 years) fulfilled the inclusion criteria.

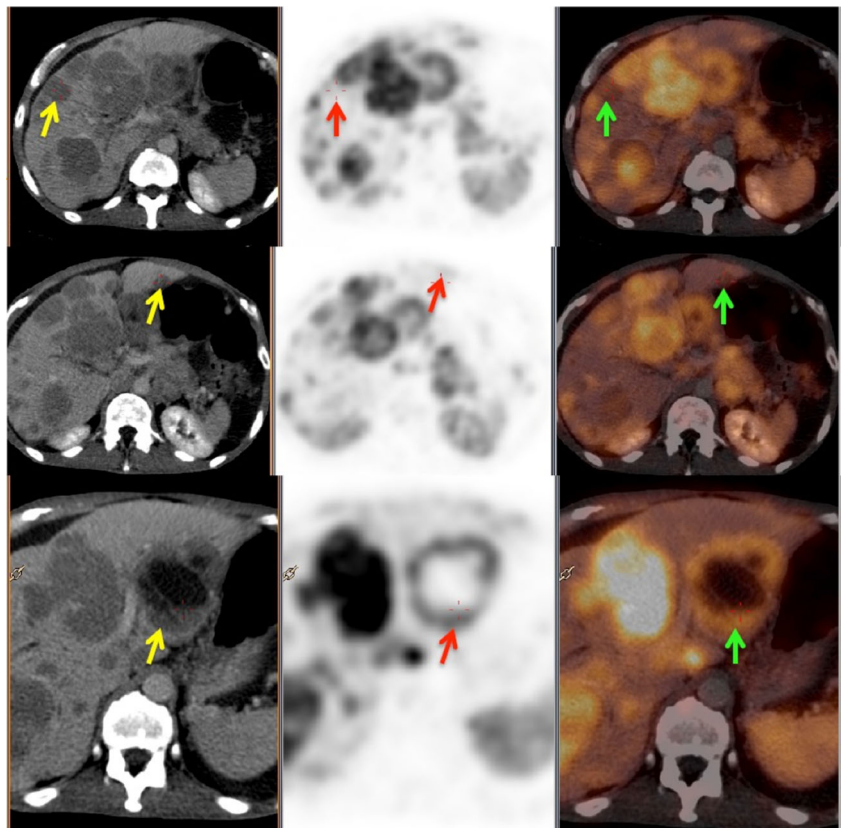
Reasons for the exclusion of 32 patients from the analyses in this study were: patients received only one PRRT cycle without any explainable reasons for not continuing therapy ($n = 16$) or prior treatment with Y-90 or MIBG or Lu-177 at

another center ($n = 5$). Patients who were already included in other studies ($n = 7$) were also excluded, as well as patients with no follow up after last therapy cycle ($n = 4$). The diagnosis of carcinoid heart disease was based on the results of routine echocardiographic assessments from the department of cardiology.

PRRT

Decision to perform PRRT was taken in institutional MDTB. According to ENETS guidelines, PRRT was performed only when a sufficient uptake on the diagnostic somatostatin

Fig. 2 PET/CT image showing somatostatin receptor heterogeneity. *Left panel: CT images; middle panel: PET images; right panel: PET/CT fused images. Yellow arrows show the CT lesions in liver; red and green arrows show corresponding lesions on PET and PET/CT fused images, respectively.* This patient was characterized as heterogeneous as more than 50% of the target lesions showed heterogeneous SSTR expression



receptor scintigraphy was present. At our center therefore only patients with SSTR expression present on >90% of the metastases were chosen for PRRT monotherapy and therefore included in this study. All patients were intended to receive at least three therapy cycles at 8–12 weeks interval. Three months after second PRRT interim staging with SSTR PET/CT or CT alone and/or MRI alone was performed. Interim staging was again performed after the third and fourth cycles. Results of the interim restaging were discussed again by the MDTB. Decision to continue PRRT after interim restaging was based on tumor response, patients' clinical condition, tolerability and side effects. After the last PRRT, patients were regularly restaged with SSTR PET/CT (3 phasic) or CT alone and/or MRI alone at 3–6 months intervals. The decision to image a patient during the course of disease was largely influenced by the clinical course.

The PRRT was performed using our standard operating procedure based on European Association of Nuclear Medicine (EANM) guideline [32]. The in-house production of Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE with 99–100% radiochemical purity was performed in our radiochemistry laboratory and is part of the standard of care for NET patients.

Lu-177 DOTATATE or Lu-177 DOTATOC was given to the patients by slow intravenous infusion over 10–15 min. All patients received kidney protection by means of an infusion of 1500 ml amino-acid mixture (250 ml NaCl plus Lysine HCL

5% plus 250 ml L-Arginine HCL 10%) over four hours. On the next day an additional 1.5 l of amino acid infusion was given. Mean administered dose per cycle was 6.6 ± 0.97 GBq Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE. In patients with prior risk factors (diabetes, uncontrolled hypertension, prior chemotherapy within three months of PRRT, carcinoid heart disease, renal insufficiency or bone marrow depression grade 1/ grade 2) the administered dose was reduced by up to 30% from standard dose of 7.4 GBq.

Somatostatin receptor PET/CT

Ga-68-DOTATATE- or -DOTATOC-PET/CT (PET) was performed on the Gemini TF 16 PET/CT system (Philips Medical Systems) according to the European Association of Nuclear Medicine Guidelines from 2010 [33]. Wherever possible (59 out of 64 patients, one patients' data missing), contrast-enhanced multi-phase CT was performed at the time of PET/CT with an intravenous injection of 70–100 ml Ultravist 370 (Bayer Pharma, Berlin, Germany) with a flow rate of 3–4 ml/s and with a delay of 30 s for the arterial phase, 50 s for the portal venous phase, and 70 s for venous phase. Four patients received contrast-enhanced CT shortly before PET/CT (15, 37, 48, 57 days before). In those cases the prior contrast enhanced CT was considered for assessment of heterogeneity.

Response assessment was performed using CT or MRI.

Table 1 Patient characteristics and statistical analyses of overall survival (OS)

Characteristic	Number	Death (n, patients)	Log rank test, <i>p</i>	HR	Cox 95% CI	Cox, <i>p</i>
All patients	65 (100%)	14				
Gender						
Male	40 (61.5%)	11	0.12			
Female	25 (38.5%)	3				
Age			X			
<50	9 (13.85%)	0				
>50	56 (86.15%)	14				
Grading			0.23	1.41	0.37–5.41	0.62
Grade 1	12 (18.5%)	4				
Grade 2	51 (78.5%)	10				
Missing	2 (3%)					
Line of PRRT			0.93			
First or second line	26 (40%)	5				
Third or more line	39 (60%)	9				
Number of PRRT cycles			X			
Two	19 (29.2%)	6				
Three	36 (55.4%)	7				
Four	9 (13.8%)	1				
Five	1 (1.5%)	0				
Primary tumor			X	0.69	0.42–1.12	0.13
Illeum	24 (36.9%)	8				
Pancreas	16 (24.6%)	4				
CUP	7 (10.8%)	1				
Rectum or lung or gastric	12 (18.5%)	1				
Others ^a	6 (9.2%)	0				
Carcinoid heart disease			0.04	0.38	0.47–7.15	0.38
Absent	57 (87.7%)	10				
Present	8 (12.3%)	4				
Carcinoid syndrome			0.03			
No	42 (64.6%)	5				
Yes	23 (35.4%)	9				

Showing patients characteristics and the results of Kaplan-Meier and Cox-regression analyses of OS. All decimal numbers are rounded to 2 digits. Median OS was not reached in the subgroups. An X indicates no analyses possible

HR Hazard ratio, CI confidence interval, PRRT peptid radio receptor therapy, CUP cancer of unknown origin

^a Other tumors were: thymus, kidney and appendix

Heterogeneity/quality of somatostatin receptor expression

As mentioned before, patients were only treated if their metastases were > 90% SSTR positive. Target lesion on CT/MRI were not the only ones used for characterization of SSTR heterogeneity instead all 'index lesions' > 2 cm and clearly visible on CT of PET/CT at baseline were used. Heterogeneity of the SSTR expression was visually assessed on the baseline PET, performed within one year before the first PRRT. The median time between baseline PET/CT and first PRRT was 26.5 days. The mean time was 46.3 days. PET/ CT images

were analyzed individually by two authors following the dual-control principle. Quality of the SSTR expression was visually assessed as follows: lesions greater than 2 cm and definitely visible on CT (target lesions) were considered for the assessment. The lesions were reanalyzed on transaxial, coronal and sagittal axes of PET images. At first the maximum intensity of SSTR expression on all lesions in liver, lymph nodes and primary tumor was visually assessed on cross sectional imaging and classified according to the modified Krenning Scale [34], i.e. grade 1: less than liver, grade 2: equal to liver, grade 3: more than liver, and grade 4: more than spleen or kidney. After this, lesions were visualized in three dimensions to

Table 2 Image characteristics and statistical analyses of overall survival (OS)

Characteristic	Number	Death (<i>n</i> , patients)	Log rank test, <i>p</i>	HR	Cox 95% CI	Cox, <i>p</i>
Modified Krennings Scale			0.14			
equal to liver	9 (14.1%)	2				
> than liver	22 (34.4%)	8				
>= spleen	33 (51.6%)	4				
missing	1					
Quality of SSTR Expression			0.01	3.68	1.09–12.48	0.04
Heterogen	28 (43.08%)	10				
Homogen	35 (53.85%)	4				
missing	2 (3.07%)					
Response			0.28			
Stable disease (SD)	23 (35.4%)	7				
Partial remission (PR)	17 (26.1%)	2				
Progressive disease (PD)	25 (38.5%)	5				

Showing image characteristics and the results of Kaplan-Meier and Cox-regression analyses of OS. All decimal numbers are rounded to 2 digits. Quality of the Somatostatin Receptor (SSTR) expression was visually assessed on baseline CT images. If $\geq 50\%$ of the target lesions are heterogeneous than the patient is attributed to globally heterogeneous and if $< 50\%$ target lesions are heterogeneous then the patient is attributed to homogeneous expression

Median OS was not reached in the subgroups

HR Hazard ratio, CI confidence interval, SSTR somatostatin receptor

assess the variability of Krenning Scale within the lesion. A change from grade 3/4 to grade 2 or from grade 2 to grade 1 in three dimensional analyses within a lesion persistent for more than 5 mm (as the intrinsic resolution of PET scanner used in this study was 4.8 mm at the center of the image) in any axes was considered as cut-off for defining a lesion as heterogeneous. In case of central necrosis, quality of SSTR expression was assessed only on the solid tumor lesion and/or on the periphery of the tumor lesion. Patients were attributed to having heterogeneous SSTR expression if $\geq 50\%$ of their lesions were heterogeneous. Patients with $< 50\%$ of their lesions being heterogeneous were attributed to having homogeneous SSTR expression. As bone metastases of NET are generally not well visible on CT and lung metastases have very high partial volume effect to reliably assess the SSTR heterogeneity, we did not consider them for this analysis. Figure 2 shows an example of a patient's PET/CT image characterized as heterogeneous as more than 50% of the target lesions showed heterogeneous SSTR expression.

Statistical analysis

SPSS Statistics 25 (IBM Inc. Armonk, NY, USA) was used for statistical analysis. Descriptive statistics are described as absolute and relative frequencies; mean or median and standard deviation or range were used to characterize the study population. The distribution of continuous variables was reported as the median and range. We assessed overall survival (OS)

and time to progression (TTP) with Kaplan-Meier analysis. OS is specified as the period of time from the first treatment until the last follow up or date of death. TTP describes the period of time from the start of the PRRT until the date on which progression was first observed. Subgroups were compared with one-sided log rank test. Multivariate analysis was conducted using Cox regression analyses. The multivariate model was constructed by the “enter method”, including all variables that had shown significance at the univariate analysis. Results were expressed as hazard ratio (HR), together with 95% confidence interval (CI). A *p* value was considered statistically significant when < 0.05 .

Results

Results of the statistical analysis for OS and TTP and the patients' characteristics can be additionally read in Tables 1, 2, 3 and 4. See Figs. 2, 3, 4, 5 and 6 for graphics of the results.

Patients' characteristics

The mean age of patients in our study was 65 years (range 26.68–78.12 years; SD 11.01). At the start of PRRT the vast majority of the patients were older than 50 years (56; 86.15%). The majority of the patients were male (40; 61.5%). Mean Ki67 was 6.9% (SD 5.8); only ten patients had Ki67 $> 10\%$. The locations of the primary tumor were as follows: ileum in

Table 3 Patients characteristics and statistical analyses of time to progression (TTP)

Characteristic	Number	Progression, <i>n</i> patients	Median	Log rank test, 95% CI	Log, <i>p</i>	HR	Cox 95% CI	Cox, <i>p</i>
All patients	65 (100%)	25	40	21.28–58.72				
Gender					0.43			
Male	40 (61.5%)	14	40	20.54–59.46				
Female	25 (38.5%)	8	58	20.07–95.93				
Age					0.54			
<50	9 (13.85%)	3	58	0–119.12				
>50	56 (86.15%)	22	40	23.29–56.71				
Grading					0.63	1.46	1.46–0.47	0.52
Grade 1	12 (18.5%)	5	26	23.92–28.08				
Grade 2	51 (78.5%)	20	54	35.81–72.19				
Missing	2 (3%)							
Line of PRRT					0.33			
First or second Line	26 (40%)	7	54	12.95–95.05				
Third or more line	39 (60%)	18	38	21.01–55.00				
Number of PRRT cycles			X	X	X			
Two	19 (29.2%)	11						
Three	36 (55.4%)	11						
Four	9 (13.8%)	3						
Five	1 (1.5%)	0						
Primary tumor					0.83	1.01	0.76–1.34	0.93
Illeum	24 (36.9%)	8	37	20.80–53.19				
Pancreas	16 (24.6%)	6	40	5.17–74.84				
CUP	7 (10.8%)	2	nr					
Rectum or lung or gastric	12 (18.5%)	5	54					
Others ^a	6 (9.2%)	4	58					
Carcinoid heart disease					0.28			
Absent	57 (87.7%)	24	40	22.19–57.81				
Present	8 (12.3%)	1						
Carcinoid syndrome					0.6			
No	42 (64.6%)	16	54	33.95–74.05				
Yes	23 (35.4%)	6	38	35.57–40.43				

Patients characteristics and the results of Kaplan-Meier and Cox-regression analyses of TTP. All decimal numbers are rounded to two digits. An X indicates no analyses possible

HR Hazard ratio, CI confidence interval, PRRT peptid radio receptor therapy, CUP cancer of unknown origin, nr not reached

^a Other tumors were: thymus, kidney and appendix

24 (36.9%) patients, pancreas in 16 (24.6%), cancer of unknown primary (CUP) in 7 (10.8%), rectum or lung in 12 (18.5%) with ten of them having rectum NET and two having lung NET. Six patients had other locations of primary, which included thymus, kidney and appendix. Grade 2 tumors were predominant: 12 patients (18.5%) had grade 1 NET and 51 (78.5%) had grade 2 NET; for two patients the grading was not available. The majority of patients had no carcinoid syndrome (42; 64.6%). Carcinoid heart disease was present in eight patients (12.3%).

Patients were treated with 2–5 therapy cycles: 19 (29.2%) patients received two therapy cycles, 36 (55.4%) received

three therapy cycles, nine (13.8%) patients received four therapy cycles and one patient (1.5%) was treated with five therapy cycles. Twenty-six patients (40%) were treated with PRRT in first (4 patients) or second line (22 patients). Thirty nine (60%) patients were treated in third or further line. Table 5 shows the patients' treatments prior to PRRT.

SSTR expression on baseline SSTR PET-CT was such that most patients had grade 4 modified Krenning Scale (33; 51.6%). Nine (14.1%) patients had Krenning scale grade 2, and 22 (34.4%) had grade 3. Quality of the SSTR expression was heterogeneous in 28 (44.4%) and homogeneous in 35 (55.6%) of the patients.

Table 4 Image characteristics and statistical analyses of time to progression (TTP)

Characteristic	Number	Progression (<i>n</i> , patients)	Median	Log rank test, 95% CI	Log, <i>p</i>	HR	Cox 95% CI	Cox, <i>p</i>
Modified Krenning scale					0.19			
Equal to liver	9 (14.1%)	4	26	2.43–49.57				
> than liver	22 (34.4%)	8	54	22.33–85.67				
>= spleen	33 (51.6%)	13	40	20.03–59.68				
Missing	1							
Quality of SSTR expression					0.03	3.09	1.12–8.52	0.03
Heterogenous	28 (43.08%)	12	26	17.69–34.31				
Homogenous	35 (53.85%)	12	54	36.54–71.46				
Missing	2 (3.07%)							

Image characteristics and the results of Kaplan-Meier and Cox-regression analyses of TTP. All decimal numbers are rounded to two digits. Quality of the SSTR expression was visually assessed on baseline CT images. If $\geq 50\%$ of the target lesions are heterogeneous then the patient is attributed to globally heterogeneous and if $< 50\%$ target lesions are heterogeneous then the patient is attributed to homogeneous expression

HR Hazard ratio, CI confidence interval, SSTR somatostatin receptor

Response after second PRRT cycle was such that disease stabilization could be achieved in 23 patients (35.4%) whereas 17 (26.1%) showed partial remission, and 25 patients (38.5%) had disease progression.

Overall survival

Results of the statistical analysis for OS are summarized in Tables 1 (patient characteristics) and 2 (image characteristics).

Patients were followed for a median duration of 25 months after the first PRRT (range 5–77 months). In the follow-up period 14 (21.5%) patients died.

The median OS was not reached. The 24-month survival rate of the whole study cohort was 83.08%. See Fig. 3 for Kaplan Maier curve of OS of the whole study population.

In univariate analyses factors having an influence on OS were found to be carcinoid heart disease, carcinoid syndrome and quality of SSTR expression (see Tables 1 and 2). Carcinoid heart disease significantly influenced OS ($p = 0.04$) as 50% (4 out of 8) of the patients with carcinoid heart disease died in the follow-up time and only 17.5% (10 out of 57) of the patients without carcinoid heart disease died.

The influence of location of primary and age could not be evaluated because of no/lack of event or death.

Fig. 3 Kaplan-Meier curve of overall survival (OS) for the entire study cohort ($n = 65$). The median OS was not reached in this study. During our mean follow-up time of 29.6 months, 14 patients (21.5%) died. The 24-month survival rate was 83.08%. Within 24 months, 11 patients died

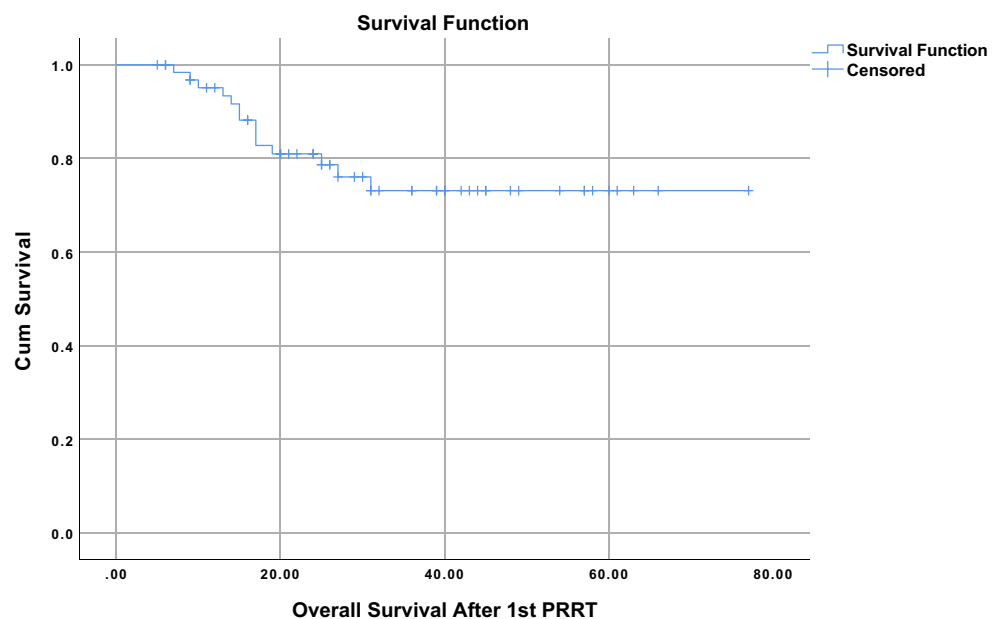
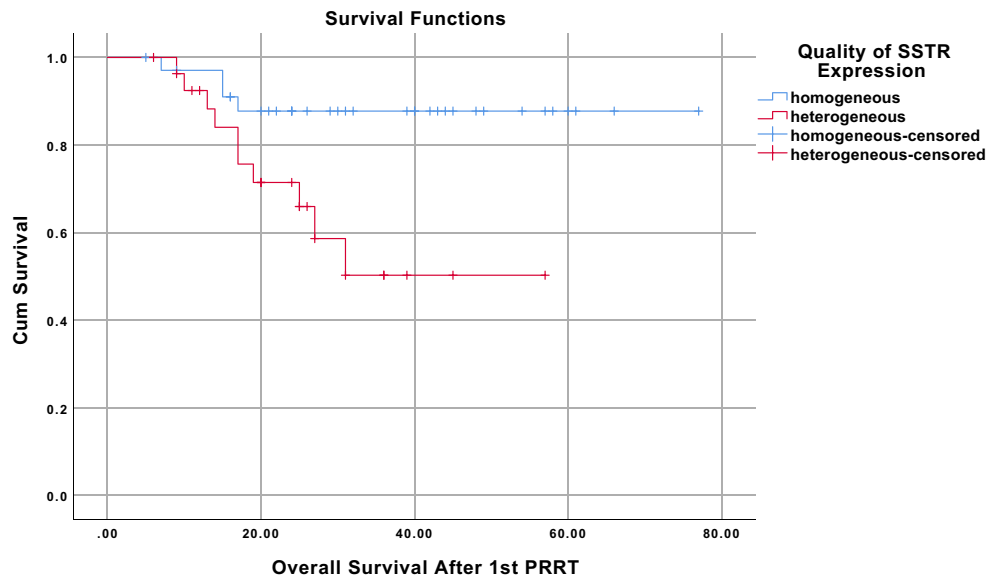


Fig. 4 Kaplan-Meier curve of overall survival (OS) stratified by tumor heterogeneity. The median OS was not reached in both subgroups. The 24-month survival rate for patients with homogeneous SSTR expression was 88.57% and for patients with heterogeneous SSTR expression it was 75%



Patients with heterogeneous SSTR expression on target lesions had significantly lower OS ($p = 0.01$). In the group of 35 patients with homogeneous SSTR expression only, 11.4% (4 patients) died in the follow up period, whereas in the group of 28 patients with heterogeneous SSTR expression 35.7% (10 patients) died. At 24 months the survival rate for patients with homogeneous SSTR expression was 88.57% (31 of 35 patients were still alive after 24 months). In comparison, patients with heterogeneous SSTR expression had a 24-month survival rate of 75% with 21 out of 28 patients still alive after 24 months. See Fig. 4 for Kaplan-Meier curve of OS stratified by tumor heterogeneity.

In multivariate analyses, in which grading, location of primary tumor, quality of SSTR expression and carcinoid heart

disease were included, quality of SSTR was found to be the only predicting factor for OS ($p = 0.04$; HR = 3.68).

Time to progression

Results of the statistical analysis of TTP are summarized in Table 3 (patient characteristics) and Table 4 (image characteristics).

Median time to progression was found to be 40 months. See Fig. 5 for Kaplan-Meier curve of TTP for the entire study cohort. In univariate analyses the only factor significantly influencing TTP was quality of SSTR expression. Patients with heterogeneous SSTR expression on target lesions had significantly lower TTP (26 months vs. 54 months, log rank

Fig. 5 Kaplan-Meier curve of time to progression (TTP) for the entire study cohort (N = 65). The median TTP was 40 months (95% CI: 21.28–58.72 months)

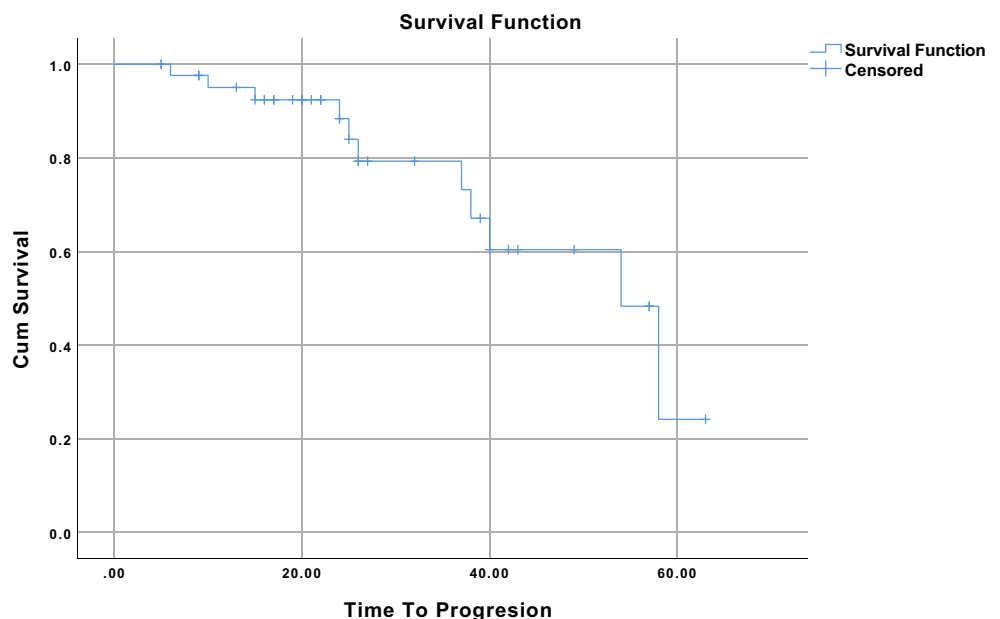
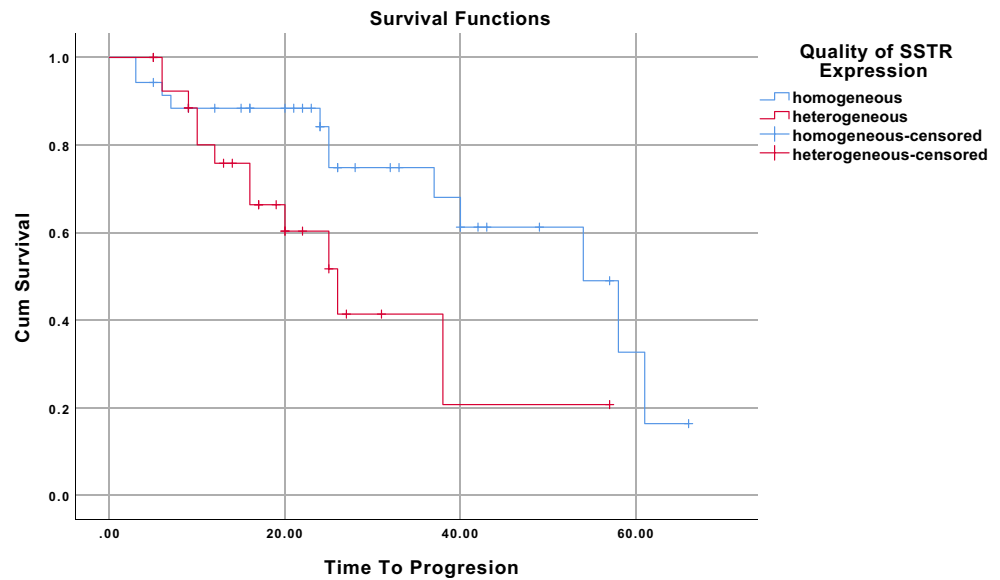


Fig. 6 Kaplan-Meier curve of time to progression (TTP) stratified by tumor heterogeneity. The median TTP for the heterogeneous subgroup was only 26 months (95% CI: 17.69–34.31 months) and for the homogeneous subgroup the median TTP was 54 months (95% CI: 36.54–71.46 months)



$p = 0.013$). See Fig. 6 Kaplan-Meier curve of TTP stratified by tumor heterogeneity.

In multivariate analyses amongst grade, primary tumor and quality of SSTR expression, again only the quality of SSTR was a deciding factor for TTP ($p = 0.03$; HR = 3.09).

The patients' sex and age, primary tumor location and grade of tumor did not influence TTP. Furthermore, line of

treatment, grade of Krenning scale, presence of carcinoid syndrome and carcinoid heart disease were not found to have an impact on TTP.

Quality of SSTR expression vs. grade

Eighty-three percent of patients with grade 1 and 34.7% of patients with grade 2 NET showed heterogeneous SSTR expression (Fisher's exact test $p = 0.003$). However, this result needs to be interpreted carefully as (a) the majority of our patients (78.5%) had grade 2 NET and (b) the majority of G2 NET had Ki67 < 10%.

Table 5 Previous therapies and their frequencies

Type of therapy	Frequency	Percent
SSA	33	50.8%
Chemotherapy ^a	35	53.9%
Loco regional therapy	9	13.9%
Operation	41	63.1%
Targeted therapy ^c	16	24.6%
Radiation	2	3.0%
Interferon	1	1.5%
LX1606 ^d	2	3.0%
No previous therapy	4	6.2%

All therapies before the treatment with PRRT and their frequency are listed. Related percent values are rounded to one decimal place

SSA somatostatin analogs, PRRT peptid radio receptor therapy

^a Chemotherapy: Gemcitabine/ Cisplatin+Doxorubicin/ Doxorubicin+ Vincristin+Cyclophosphamid/ Streptozotocin+Fluorouracil/ Temozolomid+Capecitabine/ Temozolomid/ Capecitabine/ Cisplatin+ Etoposid

^b Locoregional therapy: transarterial chemoembolization (TACE)/ Transarterial embolization (TAE), Brachytherapy, Portal Vein Embolization, Radiofrequency ablation (RFA), Selective internal radiation therapy (SIRT)

^c Targeted therapy: Sunitinib/ Vatalanib/ Rituximab/ Everolimus/ Pasireotid+Everolimus

^d Telotristat ethyl

Discussion

Global somatostatin receptor heterogeneity has an impact on the overall survival and time to progression of G1-G2 NET patients undergoing PRRT.

Systemic treatment options for metastasized neuroendocrine tumors focus primarily on somatostatin receptor analogs both cold and radiolabeled, mTOR inhibitors, tyrosine kinase inhibitors and chemotherapy with streptozotocin/5FU or temozolomid/capecitabine. Targeted drugs like mTOR inhibitors or tyrosine kinase inhibitors, although approved, rarely lead to sustainable and significant tumor reduction [35, 36]. At least in small intestinal NET this could be attributed to the fact that the targets required for cytotoxic effects of aforementioned drugs are expressed in a maximum of 13–30% of the NET cancer cells [9]. In contrast, somatostatin receptors are overexpressed in 85–90% of NET [28]. Despite the fact that tumor lesions can receive up to 250 Gy with PRRT, which is generally sufficient to kill any normal cell, progressive disease is observed in 20–30% of NET patients, whereas a majority of

patients end up achieving disease stabilization and roughly 20% show partial remission [20]. Interestingly, previous studies have shown that patients with partial remission have the same PFS as patients with disease stabilization [11]. Several theories have been proposed to explain this phenomenon; among them, genetic mutation leading to cell resistance and differential SSTR expression is seen as a major factor [37–39]. In their autoradiography study, Reubi et al. showed that even in well differentiated NET, some tumor clones fail to show SSTR expression or express only low levels of SSTR [40]. One other possible hypothesis is that PRRT can lead to clonal selection by means of only eliminating less aggressive cell clones, which leads to decrease in the RECIST measurements, but more aggressive malignant cell clones continue to grow. Interestingly, in our study we observed that amongst all the known relevant clinical and pathological parameters, the quality of SSTR expression, assessed visually on PET/CT, as the only significant predictive as well as prognostic parameter. In our study, quality of SSTR expression is even surpassing traditional Ki67 index for predicting PRRT response in SSTR positive NETs. Patients with heterogeneous SSTR expression, measured in terms of quality of SSTR expression, have a 3.7 times higher risk of death than patients with homogeneous SSTR expression. The lack of influence of Ki67 on TTP in our patient population could partially be due to the fact that the majority of the patients had G2 with low Ki67. Another reason for lack of influence of Ki67 on the TTP would be because of strict selection criteria for PRRT in our center, i.e. > 90% of lesions showing SSTR expression.

Previous studies using somatostatin receptor scintigraphy have indeed shown that target lesions having SSTR expression above the liver uptake is predictive of response to PRRT as well as to octreotide, which is clinically useful, but only takes into consideration the SSTR expression on a target lesion [41]. The indirect measurement of glucose metabolism by FDG PET has also been shown to be predictive of response, but is dependent on performing additional FDG PET/CT, which is only indirectly related to SSTR expression [41].

Assessing only the maximum intensity of somatostatin receptor expression in a tumor does not take into account the intra-lesional variation in the distribution of somatostatin receptors within a tumor. For PRRT, this intra-lesional variation of target is expected to be overcome by the cross fire effects of beta particles. However, beta particles of Lu-177 have a short range in tissue and their dose profile is more uniform inside a spherical source and falls relatively steeply outside [41]. This makes tumor cells within larger lesions (>2 cm) and inhomogeneous SSTR expression with a polydimensional irregular shape more amenable to varying and decreasing radiation absorbed dose. It is therefore expected that such lesions will progress faster. This probably explains why our patients with heterogeneous SSTR expression had a 3.1 times higher risk to undergo tumor progression compared to patients with

homogeneous SSTR expression. The inaccuracy of simply relying on proliferation rate measured with Ki67 is manifested in the fact that the measured TTP of 54 months for patients with homogeneous SSTR expression in this study is longer than median PFS for grade 1 NET found in other studies ranging between 40 and 45 [42]. Median TTP of patients with heterogeneous SSTR expression, containing both grade 1 and grade 2 NET in our study, was 28 months and as such shorter than in patients with homogeneous SSTR expression.

There are only two other reported studies investigating the prognostic value of PET-assessed tumor heterogeneity in patients scheduled for PRRT with a Lu-177 somatostatin analog [43, 44]. In both studies, it was unclear if the patients were progressive before the treatment or not. Also patients with other tumors than NET were included. For example, in the study from Werner et al. most patients (76.6%) had gastroenteropancreatic-NET (including pancreas, stomach, small intestine/mesenterium and colon), but nine patients (6.4%) had other tumor entities (including meningioma, hemangiopericytoma, pheochromocytoma, medullary thyroid carcinoma and pituitary tumor) [44]. Patients had a large variation of Ki67 indices (range from 1 to 40 %) and the administered dose varied between 0.9–9 GBq. The heterogeneity of the population makes it difficult to get any clinically applicable information as PRRT has been shown to have different ORR and PFS in G1, G2 and G3 NET. Finally, the proposed complex mathematical calculations make it difficult to use the method in clinical routine, whereas visual assessment of quality of SSTR expression, as presented here, is easily performed and therefore might be easily used in daily clinical practice. On the contrary, visual interpretation as proposed and practiced in our center shall not be done by one treating physician alone to avoid bias. That is why in this study we relied on our ‘eyes’ trained over more than 15 years of experience and reading experience of more than 10 years/reader of more than 20,000 PET/CTs; in addition in our multidisciplinary tumor board all the patients’ images, included for the analyses in this study, were already examined with six pairs of additional eyes of surgeons, gastroenterologist/endocrinologists and pathologists further decreasing the chances of any error due to visual interpretation.

Other factors, which can independently influence PFS and OS, are the tumor biology that is largely related to site of the primary tumor and their grade. Interestingly in this study neither grade of tumor nor the location of primary had any significant influence on TTP and OS. This observation may be attributed to lower number of patients or sequence of therapies pre and post PRRT.

In comparison to the results from other published retrospective and prospective studies, we found a relatively higher overall TTP of 40 months despite giving a relatively lower number of therapy cycles [11, 13, 17, 42, 45]. This can also

be due to the sequence of therapy and treatment options offered to patients at our center. Other than the sequence of therapy, which of course influences natural course of disease, it is also important to look into the possible way of dealing with metastases showing differential SSTR expression. Such patients should not be treated with PRRT alone but in combination with other treatment. For patients with extended tumor disease a combination of PRRT with other systemic therapy (e.g. mTOR inhibitors, tyrosine kinase inhibitors or immunotherapy) warrants further investigation in prospective trials.

Limitations

In this study we did not perform any additional test to determine the most appropriate cut-off for characterizing a patient as heterogeneous or homogeneous. Receiver operating characteristics would have been the most ideal way to select the number of lesions responsible for determination of prognosis of patient undergoing PRRT. However, knowing the heterogeneity of NET already, only one lesion can be responsible for influencing TTP and OS. Thus, it is impossible to find the appropriate 'number' of lesions appropriate for determining prognoses of a patient undergoing PRRT. In addition, any ROC analyses would have been extremely biased because of several other co-existing factors which independently influence the outcome of PRRT. Such analyses would have been extremely scientific but then we would have had to increase the number of patients to make anything meaningful out of the results.

In addition, it is also important to remember that centrally necrotic lesions (e.g. after prior therapies) showing sufficient somatostatin receptor expression may go on to show more homogeneous distribution after therapy if the lesion responds to PRRT and have an influence on the TTP and OS of our two subgroups. This is certainly an issue which needs further research. However, as in this study only baseline SSTR PET/CT were reanalyzed, it was not possible to confirm or rule out such a phenomenon in our patient population.

Conclusions

We conclude that the quality of SSTR expression is an important factor with impact on OS and TTP and should therefore be considered in therapeutic decisions and future studies. These results need to be verified by a prospective study.

Acknowledgements We would like to acknowledge Prof. Bertram Wiedenmann, Senior Professor and Head, NET Research, ENETS-Center of Excellence, Charite and Prof. Richard P Baum, Chairman and Clinical Director THERANOSTICS Center for Molecular Radiotherapy and Precision Oncology ENETS Center of Excellence, Zentralklinik Bad Berka, Germany, Prof. Rodney Hicks, Director Centre for Cancer Imaging, Peter MacCallum Cancer Center, Melbourne, Prof Lisa Bodei,

Director of Targeted Radionuclide Therapy, Molecular Imaging and Therapy Service, Department of Radiology and Prof. Eric P Krennig from Erasmus, Rotterdam for their useful discussion which helped us in the manuscript drafting.

Authors' contributions JG was involved in application for ethical clearance, study design, performed data collection, PET/CT image interpretation, performed statistical analyses and wrote the manuscript. UP, HJ, TD, RA, WB, MP were involved in patent management and interdisciplinary tumor board, and VP was involved in application for ethical clearance, study design, interdisciplinary tumor board, and also wrote the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Availability of data and material The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author [VP]. The data are not publicly available due to information that could compromise research participant privacy/consent.

Compliance with ethical standards

Ethics approval and consent to participate Charité's Ethics Committee, which is our institutional review board, approved this study.

Consent for publication All patients consented to the publication of their anonymised data and our institutional review board allowed the publication of the manuscript.

Competing interests The authors declare that they have no competing interests.

Abbreviations *ENETS*, European neuroendocrine tumor society; *MDTB*, Multidisciplinary tumor board; *NCCN*, National comprehensive cancer network; *NEC*, Neuroendocrine carcinomas; *NEN*, Neuroendocrine neoplasms; *NET*, Neuroendocrine tumor; *PFS*, Progression free survival; *PRRT*, Peptide receptor radionuclide therapy; *OS*, Overall survival; *SD*, Standard deviation; *SSA*, Somatostatin analog; *SSTR*, Somatostatin receptor; *TTP*, Time to progression

References

- Kulke MH, Mayer RJ. Carcinoid tumors. *N Engl J Med*. 1999;340(11):858–68.
- Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, et al. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol*. 2008;26(18):3063–72.
- Rindi G, Petrone G, Inzani F. The 2010 WHO classification of digestive neuroendocrine neoplasms: a critical appraisal four years after its introduction. *Endocr Pathol*. 2014;25(2):186–92.
- Shah MH, Goldner WS, Halfdanarson TR, Bergsland E, Berlin JD, Halperin D, et al. NCCN guidelines insights: neuroendocrine and adrenal tumors, version 2. *JNCCN*. 2018;16(6):693–702.
- Yang Z, Tang LH, Klimstra DS. Effect of tumor heterogeneity on the assessment of Ki67 labeling index in well-differentiated neuroendocrine tumors metastatic to the liver: implications for prognostic stratification. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(6):853–60.
- Grillo F, Valle L, Ferone D, Albertelli M, Brisigotti MP, Cittadini G, et al. Ki-67 heterogeneity in well differentiated gastro-enteropancreatic neuroendocrine tumors: when is biopsy reliable for grade assessment? *Endocrine*. 2017;57(3):494–502.

7. Walter D, Harter PN, Battke F, Winkelmann R, Schneider M, Holzer K, et al. Genetic heterogeneity of primary lesion and metastasis in small intestine neuroendocrine tumors. *Sci Rep*. 2018;8(1): 3811.
8. Nunez-Valdovinos B, Carmona-Bayonas A, Jimenez-Fonseca P, Capdevila J, Castano-Pascual A, Benavent M, et al. Neuroendocrine Tumor Heterogeneity Adds Uncertainty to the World Health Organization 2010 Classification: Real-World Data from the Spanish Tumor Registry (R-GETNE). *Oncologist*. 2018;23(4):422–32.
9. Alvarez MJ, Subramaniam PS, Tang LH, Grunn A, Aburi M, Rieckhof G, et al. A precision oncology approach to the pharmacological targeting of mechanistic dependencies in neuroendocrine tumors. *Nat Genet*. 2018.
10. Krenning EP, Kooij PP, Bakker WH, Breeman WA, Postema PT, Kwekkeboom DJ, et al. Radiotherapy with a radiolabeled somatostatin analogue, [111In-DTPA-D-Phe1]-octreotide: A case history. *Ann NY Acad Sci*. 1994;733:496–506.
11. Kwekkeboom DJ, de Herder WW, Kam BL, van Eijck CH, van Essen M, Kooij PP, et al. Treatment with the radiolabeled somatostatin analog [177 Lu-DOTA 0,Tyr3]octreotate: toxicity, efficacy, and survival. *J Clin Oncol*. 2008;26(13):2124–30.
12. Bodei L, Cremonesi M, Grana CM, Fazio N, Iodice S, Baio SM, et al. Peptide receptor radionuclide therapy with (1)(7)(7)Lu-DOTATATE: the IEO phase I-II study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38(12):2125–35.
13. Horsch D, Ezziddin S, Haug A, Gratz KF, Dunkelmann S, Miederer M, et al. Effectiveness and side-effects of peptide receptor radionuclide therapy for neuroendocrine neoplasms in Germany: A multi-institutional registry study with prospective follow-up. *Eur J Cancer (Oxford, England: 1990)*. 2016;58:41–51.
14. Imhof A, Brunner P, Marinckx N, Briel M, Schindler C, Rasch H, et al. Response, survival, and long-term toxicity after therapy with the radiolabeled somatostatin analogue [90Y-DOTA]-TOC in metastasized neuroendocrine cancers. *J Clin Oncol*. 2011;29(17): 2416–23.
15. Valkema R, De Jong M, Bakker WH, Breeman WA, Kooij PP, Lugtenburg PJ, et al. Phase I study of peptide receptor radionuclide therapy with [In-DTPA]octreotide: the Rotterdam experience. *Semin Nucl Med*. 2002;32(2):110–22.
16. Delpassand ES, Samarghandi A, Zamanian S, Wolin EM, Hamiditabar M, Espenan GD, et al. Peptide receptor radionuclide therapy with 177Lu-DOTATATE for patients with somatostatin receptor-expressing neuroendocrine tumors: the first US phase 2 experience. *Pancreas*. 2014;43(4):518–25.
17. Baum RP, Kluge AW, Kulkarni H, Schorr-Neufing U, Niepsch K, Bitterlich N, et al. [(177Lu-DOTA)(0)-D-Phe(1)-Tyr(3)-Octreotide ((177)Lu-DOTATOC) For Peptide Receptor Radiotherapy in Patients with Advanced Neuroendocrine Tumours: A Phase-II Study. *Theranostics*. 2016;6(4):501–10.
18. Sansovini M, Severi S, Ambrosetti A, Monti M, Nanni O, Samelli A, et al. Treatment with the radiolabelled somatostatin analog Lu-DOTATATE for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology*. 2013;97(4):347–54.
19. Strosberg J, El-Haddad G, Wolin E, Hendifar A, Yao J, Chasen B, et al. Phase 3 Trial of 177Lu-Dotatate for Midgut Neuroendocrine Tumors. *N Engl J Med*. 2017;376(2):125–35.
20. Prasad V, Bodei L, Kidd M, Modlin IM. Whither peptide receptor radionuclide therapy for neuroendocrine tumors: an Einsteinian view of the facts and myths. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;41(10):1825–30.
21. Grzywa TM, Paskal W, Wlodarski PK. Intratumor and intertumor heterogeneity in melanoma. *Transl Oncol*. 2017;10(6):956–75.
22. Marusyk A, Polyak K. Tumor heterogeneity: causes and consequences. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1805(1):105–17.
23. Liu J, Dang H, Wang XW. The significance of intertumor and intratumor heterogeneity in liver cancer. *Exp Mol Med*. 2018;50(1):e416.
24. Saber A, Hiltermann TJN, Kok K, Terpstra MM, de Lange K, Timens W, et al. Mutation patterns in small cell and non-small cell lung cancer patients suggest a different level of heterogeneity between primary and metastatic tumors. *Carcinogenesis*. 2017;38(2): 144–51.
25. Puram SV, Tirosh I, Parikh AS, Patel AP, Yizhak K, Gillespie S, et al. Single-Cell Transcriptomic Analysis of Primary and Metastatic Tumor Ecosystems in Head and Neck Cancer. *Cell*. 2017;171(7):1611–24.e24.
26. Ellsworth RE, Blackburn HL, Shriver CD, Soon-Shiong P, Ellsworth DL. Molecular heterogeneity in breast cancer: State of the science and implications for patient care. *Semin Cell Dev Biol*. 2017;64:65–72.
27. Kidd M, Modlin IM, Bodei L, Drozdov I. Decoding the Molecular and Mutational Ambiguities of Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Neoplasm Pathobiology. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2015;1(2):131–53.
28. Charoenpitakchai M, Liu E, Zhao Z, Koyama T, Huh WJ, Berlin J, et al. In liver metastases from small intestinal neuroendocrine tumors, SSTR2A expression is heterogeneous. *Virchows Arch*. 2017;470(5):545–52.
29. Werner RA, Ilhan H, Lehner S, Papp L, Zsoter N, Schatka I, et al. Pre-therapy Somatostatin Receptor-Based Heterogeneity Predicts Overall Survival in Pancreatic Neuroendocrine Tumor Patients Undergoing Peptide Receptor Radionuclide Therapy. *Mol Imaging Biol*. 2019;21(3):582–590.
30. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer (Oxford, England: 1990)*. 2009;45(2):228–47.
31. Kwekkeboom DJ, Krenning EP, Lebtahi R, Komminoth P, Kos-Kudla B, de Herder WW, et al. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: peptide receptor radionuclide therapy with radiolabeled somatostatin analogs. *Neuroendocrinology*. 2009;90(2):220–6.
32. Bodei L, Mueller-Brand J, Baum RP, Pavel ME, Horsch D, O'Dorisio MS, et al. The joint IAEA, EANM, and SNMMI practical guidance on peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) in neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013;40(5):800–16.
33. Virgolini I, Ambrosini V, Bomanji JB, Baum RP, Fanti S, Gabriel M, et al. Procedure guidelines for PET/CT tumour imaging with 68Ga-DOTA-conjugated peptides: 68Ga-DOTA-TOC, 68Ga-DOTA-NOC, 68Ga-DOTA-TATE. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2010;37(10):2004–10.
34. Krenning EP, Kwekkeboom DJ, Bakker WH, Breeman WA, Kooij PP, Oei HY, et al. Somatostatin receptor scintigraphy with [111In-DTPA-D-Phe1]- and [123I-Tyr3]-octreotide: the Rotterdam experience with more than 1000 patients. *Eur J Nucl Med*. 1993;20(8): 716–31.
35. Singh S, Carnaghi C, Buzzoni R, Pommier RF, Raderer M, Tomasek J, et al. Everolimus in Neuroendocrine Tumors of the Gastrointestinal Tract and Unknown Primary. *Neuroendocrinology*. 2018;106(3):211–20.
36. Pavel M, Valle JW, Eriksson B, Rinke A, Caplin M, Chen J, et al. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Neoplasms: Systemic Therapy - Biotherapy and Novel Targeted Agents. *Neuroendocrinology*. 2017;105(3):266–80.
37. Bodei L, Kidd M, Modlin IM, Prasad V, Severi S, Ambrosini V, et al. Gene transcript analysis blood values correlate with (6)(8)Ga-DOTA-somatostatin analog (SSA) PET/CT imaging in

- neuroendocrine tumors and can define disease status. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;42(9):1341–52.
38. Bodei L, Kidd MS, Singh A, van der Zwan WA, Severi S, Drozdov IA, et al. PRRT genomic signature in blood for prediction of (177)Lu-octreotate efficacy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2018;45(7):1155–69.
39. Jamal-Hanjani M, Quezada SA, Larkin J, Swanton C. Translational implications of tumor heterogeneity. *Clin Cancer Res*. 2015;21(6):1258–66.
40. Reubi JC, Kvols LK, Waser B, Nagorney DM, Heitz PU, Charboneau JW, et al. Detection of somatostatin receptors in surgical and percutaneous needle biopsy samples of carcinoids and islet cell carcinomas. *Cancer Res*. 1990;50(18):5969–77.
41. Oh S, Prasad V, Lee DS, Baum RP. Effect of Peptide Receptor Radionuclide Therapy on Somatostatin Receptor Status and Glucose Metabolism in Neuroendocrine Tumors: Intraindividual Comparison of Ga-68 DOTANOC PET/CT and F-18 FDG PET/CT. *Int J Mol Imaging*. 2011;2011:524130.
42. Ezziddin S, Khalaf F, Vanezi M, Haslerud T, Mayer K, Al Zreiqat A, et al. Outcome of peptide receptor radionuclide therapy with 177Lu-octreotate in advanced grade 1/2 pancreatic neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;41(5):925–33.
43. Wetz C, Apostolova I, Steffen IG, Hofheinz F, Furth C, Kupitz D, et al. Predictive Value of Asphericity in Pretherapeutic [(111)In]DTPA-Octreotide SPECT/CT for Response to Peptide Receptor Radionuclide Therapy with [(177)Lu]DOTATATE. *Mol Imaging Biol*. 2017;19(3):437–45.
44. Werner RA, Lapa C, Ilhan H, Higuchi T, Buck AK, Lehner S, et al. Survival prediction in patients undergoing radionuclide therapy based on intratumoral somatostatin-receptor heterogeneity. *Oncotarget*. 2017;8(4):7039–49.
45. Sabet A, Dautzenberg K, Haslerud T, Aouf A, Sabet A, Simon B, et al. Specific efficacy of peptide receptor radionuclide therapy with (177)Lu-octreotate in advanced neuroendocrine tumours of the small intestine. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;42(8):1238–46.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Komplette Publikationsliste

Josephine Graf, Ulrich-Frank Pape, Henning Jann, Timm Denecke, Ruza Arsenic, Winfried Brenner, Marianne Pavel, Vikas Prasad; Prognostic Significance of Somatostatin Receptor Heterogeneity in Progressive Neuroendocrine Tumor Treated with Lu-177 DOTATOC or Lu-177 DOTATATE. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2020;47(4):881-94.

Impact Factor (2019): 7.081, Five year impact factor (2019): 6.610

Danksagung

Ich möchte mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Vikas Prasad für seine hervorragende Betreuung bedanken. Dank ihm habe ich mich diesem interessanten Promotionsthema widmen können und mit seiner Begeisterung für Forschung ist er mir ein großes Vorbild.

Den Koautoren des Papers danke ich für ihre hilfreichen Anmerkungen und konstruktive Kritik beim Verfassen des Papers.

Außerdem bedanke ich mich bei meiner Familie und Freunden, die mich mein gesamtes Studium großartig unterstützt haben, insbesondere möchte ich mich bei meinem Vater Dr. Stefan Grotehans für seine hilfreichen Ideen beim Korrektur lesen und seine immerwährende große Hilfsbereitschaft bedanken.