

VOORSPELLEN BIJ WELKE PATIËNTEN PARP-REMMERS WERKEN

Promovendus ontwikkelt test

PARP-remmers kunnen de doodsteek geven aan tumorcellen die al kampen met een defect DNA-reparatiemechanisme. Promovendus Kishan Naipal ontwikkelde een test om te voorspellen bij welke patiënten de behandeling succes kan hebben.

Naipal was blij verrast dat hij afgelopen april de *Nortier Lecture 2016* mocht houden. Zijn begeleiders van het Erasmus MC meldden hem ervoor aan. 'Er zijn zoveel kandidaten; ik had niet verwacht dat de jury mijn onderzoek eruit zou pikken', zegt hij. 'Het is tenslotte nogal moleculair-biologisch van aard, ook al is er een sterke link naar de kliniek.' Dat hij desondanks werd uitgekozen – én bovendien veel positieve reacties kreeg – bewijst voor hem dat klinici wel degelijk geïnteresseerd zijn in dit type onderzoek.

Enkelstrengsbreukreparatie

Naipals proefschrift *Functional ex vivo assays to guide personalized cancer treatment: from bench to bedside!* draait om een test die moet voorspellen of PARP-remmers effectief zullen zijn bij een specifieke kankerpatiënt. Al sinds de jaren zeventig is bekend dat het enzym PARP betrokken is bij een

DNA-reparatiemechanisme: enkelstrengsbreukreparatie. 'Destijds werden al PARP-remmers gebruikt, maar dan puur om het mechanisme te bestuderen', vertelt Naipal. 'Pas in 2005 kwamen twee onderzoeksgroepen onafhankelijk van elkaar op het idee om PARP-remmers toe te passen bij de behandeling kankerpatiënten.'

DNA-reparatie saboteren

De achterliggende gedachte is bijzonder elegant. Van sommige tumoren is bekend dat een ander DNA-reparatiemechanisme defect is. Dat geldt bijvoorbeeld voor kankerpatiënten met een BRCA-mutatie. Bij hen is het gen gemuteerd dat verantwoordelijk is voor DNA-reparatie door middel van homologe recombinatie. Bij kankerpatiënten met een BRCA-mutatie is in alle lichaamscellen één kopie van het BRCA-gen gemuteerd, maar in de tumor geldt dat voor beide varianten en is homologe recombinatie dus niet meer actief. Wat nu als je het back-upreparatiesysteem – enkelstrengsbreukreparatie – saboteert door PARP-remmers toe te dienen? Dan zullen de tumorcellen doodgaan, terwijl gezonde cellen overleven. Die beschikken tenslotte nog wél over homologe recombinatie.

PARP-remmers in de praktijk

In oktober 2014 bracht de EMA een positief advies uit over de PARP-remmer olaparib voor de behandeling van patiënten met een gemetastaseerd ovariumcarcinoom met een BRCA-mutatie. 'Voor mammacarcinoom, prostaatacarcinoom en pancreascarcinoom zijn PARP-remmers vooralsnog alleen toegestaan in studieverband', weet Naipal. Voor die andere vormen van kanker lopen op dit moment klinische studies in het Antoni van Leeuwenhoek, Erasmus MC, LUMC en UMC Groningen.

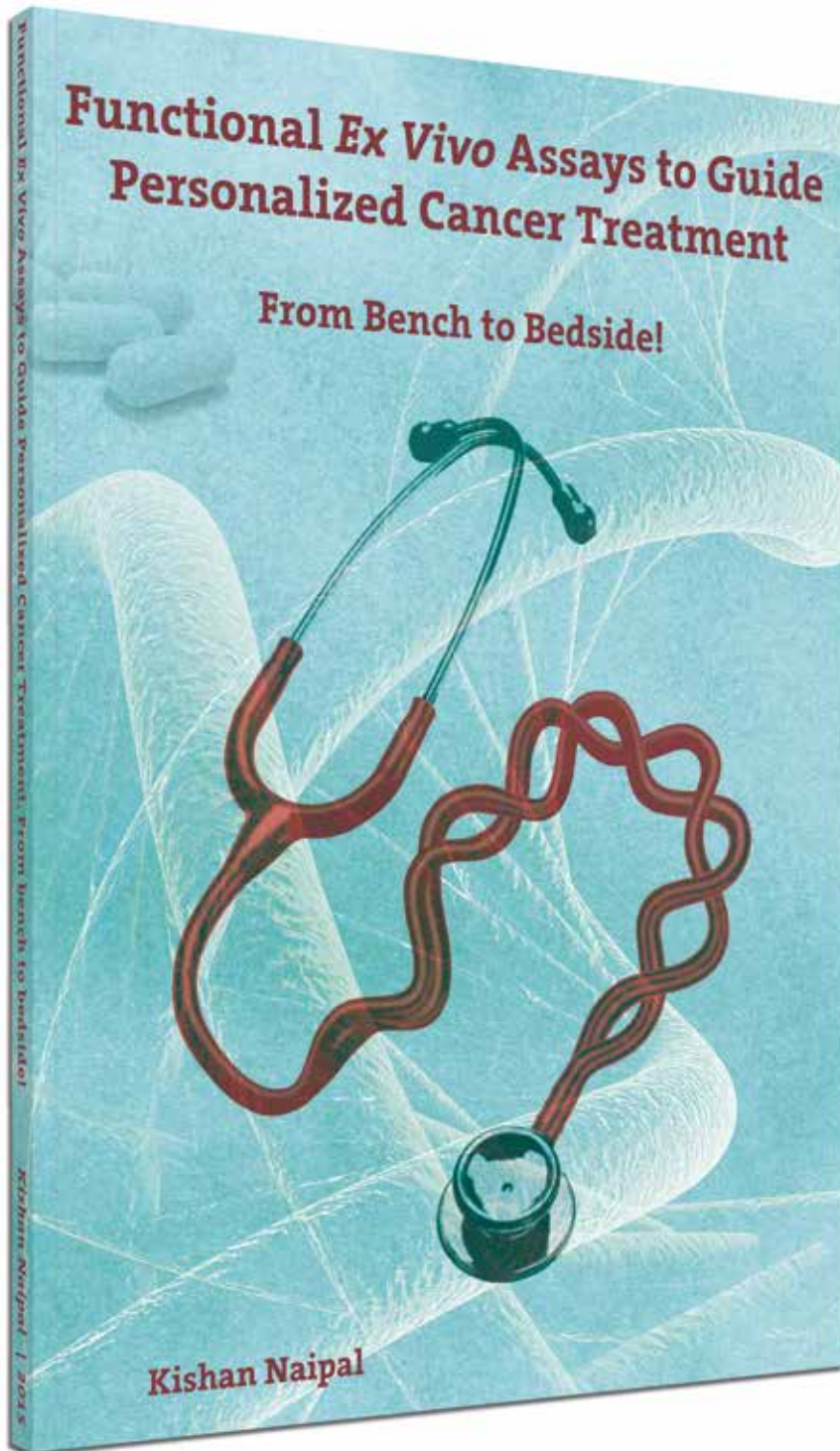
Omdat het om een *targeted therapy* gaat, zijn er nauwelijks bijwerkingen. 'Een probleem is wel dat deze medicijnen niet bij iedereen aanslaan. Je komt daar pas na 3 tot 6 maanden achter – dat betekent

K.A.T. Naipal (1986) studeerde geneeskunde in Rotterdam en behaalde een researchmaster in *molecular medicine*.

Op 3 november 2015 promoveerde hij aan de Erasmus Universiteit Rotterdam bij promotor prof. dr. J.H.J. Hoeijmakers (moleculaire genetica) en copromotor dr. D.C. van Gent (moleculaire genetica). De titel van zijn proefschrift luidt *Functional ex vivo assays to guide personalized cancer*

treatment: from bench to bedside!. Op 12 april 2016 hield de promovendus tijdens het *NABON-BOOG Symposium de Nortier Lecture 2016*. Momenteel is hij in opleiding tot internist bij het Erasmus MC en het Elisabeth-TweeSteden Ziekenhuis in Tilburg.





veel tijdsverlies.’ Om deze reden ontwikkelde Naipal een *ex vivo* functionele assay om aan te tonen of homologe recombinatie inderdaad inactief is in het tumorweefsel van een specifieke patiënt. ‘In sommige gevallen wordt homologe recombinatie in de tumor, door onder meer nieuwe mutaties, namelijk tóch weer actief’, legt hij uit. ‘Dan zullen PARP-remmers geen effect hebben.’

Geen BRCA-mutatie

De test die Naipal ontwikkelde kan nog een ander doel dienen. ‘Er zijn ook patiënten zónder BRCA-mutatie bij wie het mechanisme voor homologe

recombinatie niet meer werkzaam is. De reden daarvoor ligt dan in epigenetische veranderingen. Deze patiënten kunnen eveneens baat hebben bij PARP-remmers, maar dan moet je wel kunnen aantonen bij wie homologe recombinatie inactief is.’

Om te testen of PARP-remmers effect kunnen hebben bij een individuele patiënt, ontwikkelde Naipal een functionele *ex vivo* assay voor stukjes tumor. ‘We kijken niet naar statische veranderingen in een bepaald gen of eiwit, maar naar de functionaliteit van een mechanisme bij de individuele patiënt’, vertelt hij. ‘Daarom moeten we het tumorweefsel in leven houden. Een groot deel van mijn onderzoek →

‘De uitslag van onze assay wordt vergeleken met de daadwerkelijke effectiviteit van PARP-remmers bij patiënten met gemetastaseerd mamma-carcinoom, ovariumcarcinoom, pancreascarcinoom of prostaatcarcinoom’

wijdde ik aan het ontwikkelen van een systeem dat daartoe in staat is.’ Dat is gelukt: tumorplakjes blijven gedurende meer dan één week in leven zonder waarneembare veranderingen in morfologie, levensvatbaarheid of celproliferatie. ‘We werken met weefselplakjes van 300 micrometer dik – voldoende om een bepaalde morfologie te behouden. Maar er is in zo’n plakje uiteraard geen circulatiesysteem; daarom maakten we daar zelf een alternatief voor. De plakjes zweven en draaien rond in een kweekmedium, waaraan onder meer groeifactoren en hormonen zijn toegevoegd die ook in het lichaam aanwezig zijn. We hebben stap voor stap uitgetest welke stoffen nodig zijn om de cellen te laten overleven.’ Doordat de plakjes zo dun zijn, kunnen de stoffen in het medium alle cellen via diffusie bereiken.

Gammastraling

De uiteindelijke test bestaat uit het genereren van dubbelstrengs-DNA-schade met behulp van een Cesium-bron die gammastraling uitzendt. ‘Homologe recombinatie is één van de reparatiemechanismen voor dat soort DNA-schade’, licht de onderzoeker toe. ‘Als het mechanisme actief is, zien we een ophoping van het eiwit RAD51 op de plek van de schade. We laten het mechanisme 2 uur lang zijn gang gaan en dan fixeren en kleuren we de coupes. Als het eiwit RAD51 na de kleuring zichtbaar is, dan weten we dat het homologe recombinatiemechanisme nog actief is en PARP-remmers geen zin hebben.’

Validatie test

De test moet nog wel worden gevalideerd. ‘Daarvoor loopt sinds begin dit jaar een studie bij het Antoni van Leeuwenhoek, Erasmus MC, LUMC en UMC Groningen. De uitslag van onze assay wordt vergeleken met de daadwerkelijke effectiviteit van PARP-remmers bij patiënten met gemetastaseerd mamma-carcinoom, ovariumcarcinoom, pancreascarcinoom of prostaatcarcinoom.’ In de vier genoemde centra is de assay goed uitvoerbaar. Voor kleinere perifere centra ligt dat lastiger. ‘Ik denk daarom dat,

als de test wordt uitgerold, we hem centraal moeten laten uitvoeren. Op die manier bouwen die centra meteen meer ervaring op met de assay. Gelukkig blijft een biopt een poosje in leven als je het onder de juiste condities bewaart, bij een temperatuur van -4°C . Er is dan genoeg tijd voor transport naar een ander centrum.’

Toekomst PARP-remmers

Naipal hoopt dat PARP-remmers ook als eerstelijns behandeling zullen worden ingezet en wellicht ook vaker als monotherapie, wat nu in de eerste lijn zeker nog niet het geval is. ‘Het gaat om een kleine groep patiënten – bij mamma-carcinoom zo’n 10 tot 15 procent van het totaal – maar voor die groep kun je wel veel verbeteren. Al was het maar het verlengen van het leven, met een hogere kwaliteit van leven, zonder bijwerkingen.’

Voor lokale tumoren zal chirurgie de eerste keus blijven, zegt Naipal. ‘Maar ik sluit niet uit dat PARP-remmers zinvol blijken in een neo-adjuvante setting of misschien zelfs profylactisch bij patiënten met een BRCA-mutatie.’ Voor internist-oncologen is het goed om te weten dat patiënten met ovarium-carcinoom met een BRCA1- of BRCA2-mutatie PARP-remmers kunnen krijgen. Patiënten met mamma-carcinoom of een ander type kanker met een BRCA-mutatie kunnen eventueel deelnemen aan een studie in een van de vier centra.

Tussen lab en kliniek

Inmiddels is Naipal in opleiding tot internist. Hij wil uiteindelijk internist-oncoloog worden. ‘Ik wil werken als arts, maar ook fundamenteel onderzoek blijven doen. Tijdens mijn onderzoek merkte ik dat de laboratoriumonderzoekers zelden artsen tegenkwamen en andersom – daar wil ik verandering in brengen. Ik denk dat veel fundamenteel onderzoek dan sneller kan worden toegepast – niet na pas 30 jaar, maar al na 5 of 10 jaar.’ Het onderzoek trekt zo sterk, dat Naipal van plan is om zijn opleiding in deeltijd te gaan volgen, zodat hij daarnaast onderzoek kan doen. ‘Ik wil daar subsidies voor binnenhalen.’ Wellicht komt het daarbij nog van pas dat hij de *Nortier Lecture* mocht geven? ‘Dat staat zeker mooi op mijn cv.’ ←