

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/33206> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Verbeek, Floris Paul Reinier

Title: Image-guided cancer surgery : the value of near-infrared fluorescence imaging during oncologic and gastrointestinal procedures

Issue Date: 2015-06-03

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Beeldgeleide chirurgie met nabij-infrarode (NIR) fluorescentie is een relatief nieuwe techniek die het mogelijk maakt om de chirurg tijdens een ingreep waardevolle informatie te verschaffen. NIR fluorescentie heeft de potentie om maligne tumorweefsel, schildwachtklieren en vitale structuren in *real-time* te visualiseren.

Dit proefschrift is verdeeld in drie delen. In **Deel een** wordt de mogelijkheid om de maligne tumoren te visualiseren met fluorescente beeldvorming beschreven. Beeldvorming van tumorweefsel is onderzocht met zowel de klinisch beschikbare contrastmiddelen indocyaninegroen (ICG) en methyleenblauw als met nieuw ontwikkelde tumor-specifieke contrastmiddelen. **Deel twee** van dit proefschrift beschrijft de klinische implementatie van NIR fluorescentie geleide schildwachtklierprocedures voor verschillende indicaties, waaronder het mammacarcinoom, het melanoom en het vulvacarcinoom.

Naast de visualisatie van structuren die verwijderd moeten worden (maligne weefsel en schildwachtklieren), kan NIR fluorescentie ook van waarde zijn bij de identificatie van vitale structuren die tijdens de operatie juist gespaard moeten worden, zoals bijvoorbeeld zenuwen, galwegen of ureters. **Deel drie** van dit proefschrift demonstreert de *first-in-human* toepassing van NIR fluorescentie geleide visualisatie de ureter. Tevens wordt optimalisatie van galwegimaging voor laparoscopische toepassing beschreven.

Deel I: peroperatieve visualisatie van maligne tumoren

Tot op heden zijn ICG en methyleenblauw de enige NIR fluorophoren (contrastmiddelen) die zijn goedgekeurd voor klinische toepassing door de U.S. Food and Drug Administration (FDA) en de European Medicines Agency (EMA). Beide stoffen zijn echter niet tumor-specifiek en kunnen ook niet worden gekoppeld aan tumor specifieke bestanddelen zoals antilichamen of peptides. Desondanks is de visualisatie van maligne tumoren toch mogelijk met ICG en methyleenblauw op basis van bepaalde fysiologische eigenschappen. De specificiteit blijft echter een belangrijk probleem, waardoor er een grote behoefte bestaat aan de ontwikkeling van nieuwe tumor specifieke contrastmiddelen.

In **hoofdstuk 2** wordt het gebruik van een lage dosis van het fluorescente contrastmiddel ZW800-1, gekoppeld aan het cyclische peptide RGD (cRGD), geëvalueerd voor de beeldvorming van zowel colorectale tumorcellen als ureters in verschillende diervormen. In subcutane- en orthotopische tumormodellen werd cRGD-ZW800-1 succesvol toegepast om maligne cellen te identificeren. Twee negatieve controlegroepen (cRAD-ZW800-1 en ZW800-1 alleen) werden gebruikt om de specificiteit van

cRGD-ZW800-1 *in vivo* te evalueren. Muizen die in de negatieve controlegroepen werden geïncubeerd, lieten zowel tijdens *in vivo* beeldvorming met het FLAREtm imaging system als *ex vivo* met de Odyssey scanner geen adequaat tumorsignaal zien. cRGD-ZW800-1 liet een significant hoger tumorsignaal zien in zowel het subcutane als het orthotopie tumormodel. De renale klaring van cRGD-ZW800-1 maakte het mogelijk om de ureters peroperatief te visualiseren met NIR fluorescente beeldvorming. De mogelijkheid om zowel tumorcellen als ureters te visualiseren met een contrastmiddel kan vooral van waarde zijn bij gecompliceerde chirurgische ingrepen in het kleine bekken.

Hoofdstuk 3 beschrijft de mogelijkheid om borstkanker te detecteren met methyleenblauw als fluorescent contrastmiddel. In deze klinische studie werden 24 patiënten geïncubeerd, bij 83% van deze patiënten kwam de tumorbeeldvorming door NIR fluorescentie overeen met de histologische aanwezigheid van maligne cellen. Bij 1 patiënt werd de chirurgische besluitvorming aangepast op basis van de peroperatieve NIR fluorescente beelden, waardoor een tweede operatie bij deze patiënt kon worden voorkomen. Dit is de eerste studie die de mogelijkheid demonstreert om borstkanker te detecteren met een lage dosis methyleenblauw in combinatie met NIR fluorescentie.

In **hoofdstuk 4** worden de ontwikkeling, de huidige toepassing en het toekomstperspectief van NIR fluorescentie voor de hepatopancreatobiliaire chirurgie geëvalueerd. De waarde van ICG voor demarcatie van levertumoren en visualisatie van de galwegen is in de (pre)klinische setting reeds onderzocht. Het werkingsmechanisme hierbij is gebaseerd op de fysiologische klaring van ICG. Ondanks de veelbelovende klinische resultaten, zijn grote gerandomiseerde klinische trials noodzakelijk om het voordeel voor de patiënt aan te tonen.

Deel II: NIR fluorescentie geleide schildwachtklieprocedure

In **Hoofdstuk 5** wordt de diagnostische accuratesse van NIR fluorescentie geleide beeldvorming tijdens de schildwachtklieprocedure in relatie tot conventionele technieken bij borstkankerpatiënten onderzocht. Patiënten werden geïncubeerd in het Dana-Farber / Harvard Cancer Center en in het Leids Universitair Medisch Centrum. Bij 94 van de 95 patiënten (99%) kon de schildwachtklie succesvol worden geïdentificeerd met behulp van NIR fluorescentie alléén, of door middel van een combinatie van NIR fluorescentie en radioactiviteit. Daarnaast bleek NIR fluorescentie beter te presteren dan radioactiviteit en patentblauw bij het vinden van tumor positieve schildwachtklieren. Met NIR fluorescentie bleek het mogelijk om bij 81% van de patiënten het drainagegebied percutaan in kaart te brengen, hetgeen bijdroeg aan een betere detectie van de schildwachtklie. Er werden geen allergische reacties waarge-

nomen die een mogelijke relatie hadden met de ICG injectie of de NIR fluorescentie. Deze studie bevestigt de accurate en veilige toepassing van NIR fluorescentie en ICG voor de identificatie van schildwachtklier bij het mammacarcinoom.

Hoofdstuk 6 beschrijft het gebruik van een hybride NIR fluorescente en radioactieve tracer voor de detectie van de schildwachtklier bij het mammacarcinoom. Deze studie laat de mogelijkheid zien van gecombineerde preoperatieve beeldvorming en peroperatieve navigatie met een fluorescent-radioactieve tracer. De schildwachtklieren konden tijdens de chirurgische procedure worden gedetecteerd met zowel γ straling als met NIR fluorescentie in alle ($n = 32$) patiënten. Deze techniek heeft als voordeel dat er geen extra ICG injectie op de operatiekamer noodzakelijk is. Daarnaast lijken de resultaten van deze studie overeen te komen met studies waarin alleen ICG is gebruikt. In **Hoofdstuk 7** wordt dezelfde hybride NIR fluorescente en radioactieve tracer gebruikt bij patiënten met een melanoom.

In **Hoofdstuk 8** wordt de technische haalbaarheid van lymfeklier visualisatie met NIR fluorescentie bij blaaskanker onderzocht; daarnaast werd getracht de injectie techniek bij deze tumoren te optimaliseren. De uitgebreidheid van lymfklierresecties bij de behandeling van blaaskanker is nog onderdeel van discussie, waarbij ook de waarde van de schildwachtklier procedure nog onzeker is. 20 Patiënten met een invasief blaascarcinoom, die reeds gepland waren voor een radicale cystectomie, werden prospectief geïnccludeerd. De patiënten kregen tijdens operatie 1.6ml ICG:HSA in 4 kwadranten rondom de tumor toegediend. Bij de eerste 5 patiënten werd tijdens laparotomie ICG:HSA subserosaal toegediend, bij de overige 15 patiënten werd middels cystoscopie vlak voor het begin van de ingreep ICG:HSA submucosaal toegediend. Fluorescente lymfebanen en lymfeklieren waren alleen zichtbaar in de groep waarin ICG:HSA cystoscopisch werd toegediend. Het vullen van de blaas na injectie bleek van toegevoegde waarde om lymfedrainage te bespoedigen waarbij in 11 van de 12 patiënten (92%) een of meerdere lymfeklieren konden worden geïdentificeerd. Dit onderzoek demonstreert het succesvolle gebruik van NIR fluorescentie en ICG:HSA voor de visualisatie van schildwachtklieren en lymfedrainage in blaaskankerpatiënten. Met name bij hoog risico patiënten zou deze techniek van toegevoegde waarde kunnen zijn bij het minimaal-invasief evalueren van de lymfeklierstatus. Ook kunnen potentieel aangedane lymfklieren die buiten het standaard resectievlak liggen met deze techniek gedetecteerd en vervolgens uitgenomen worden.

In **Hoofdstuk 9** wordt de toegevoegde waarde van NIR fluorescente beeldvorming bij het vulvacarcinoom onderzocht. Voorgaande studies suggereren dat het mixen van ICG met humaan serum albumine (ICG:HSA) de retentie in de eerste echelon klier verhoogt. In dit hoofdstuk worden verschillende bereidingswijzen van ICG voor fluorescentie geleide SLN biopsie bij het vulvacarcinoom onderzocht. NIR fluorescentie bleek in alle groepen beter te presteren dan patentblauw. Daarnaast bleek

ICG gemixt met ^{99m}Tc -nanocolloid voor de detectie van de SLN in patiënten met een vulvacarcinoom, optimale resultaten te verschaffen.

Deel III: peroperatieve beeldvorming van vitale structuren

In **Hoofdstuk 10** wordt de peroperatieve visualisatie van de ureter met NIR fluorescente beeldvorming en methyleenblauw onderzocht. Iatrogene schade aan de ureter is een belangrijk probleem bij gecompliceerde chirurgische ingrepen in het kleine bekken. Omdat de diagnose van een ureterletsel in veel gevallen laat gesteld wordt, kunnen er ernstige complicaties optreden. In het verleden is getracht om met kleurstof de ureters te detecteren, omdat deze renaal geklaard wordt. Hiervoor was echter toediening van een hoge dosis methyleenblauw noodzakelijk. Omdat methyleenblauw ook fluorescente eigenschappen heeft in het NIR spectrum, kan deze stof al bij een zeer lage concentratie met fluorescentie-camerasystemen worden gedetecteerd. Bij alle patiënten werden de ureters duidelijk gevisualiseerd middels NIR fluorescentie. Deze studie demonstreert voor het eerst het succesvolle gebruik van NIR fluorescentie en methyleenblauw voor de identificatie van ureters tijdens chirurgie in het kleine bekken. Omdat het met NIR fluorescentie mogelijk is om dieper door het weefsel te kijken met significant lagere doses methyleenblauw, geeft deze techniek de chirurg op een veilige manier waardevolle informatie. **Hoofdstuk 11** demonstreert de optimalisatie en klinische toepasbaarheid van NIR fluorescentie cholangiografie tijdens zowel open- als laparoscopische galwegchirurgie. De laparoscopische cholecystectomie is wereldwijd een van de meest uitgevoerde chirurgische ingrepen. Galwegletsel is hierbij een zeldzame, maar ernstige complicatie. Nabij-infrarode fluorescente beeldvorming met ICG is een niet-invasieve techniek die het mogelijk maakt om de galwegenanatomie te visualiseren tijdens de laparoscopische cholecystectomie. In deze studie werden 41 patiënten geïnccludeerd en verdeeld over verschillende groepen m.b.t. tijdsinterval en toegediende dosis. Een interval van 24 uur tussen ICG toediening en chirurgie met een dosis van 10 mg bleek optimale contrast-visualisatie te geven. Fluorescente beeldvorming blijkt een veilige, en een goed toepasbare techniek te zijn voor identificatie van de biliare anatomie tijdens laparoscopische chirurgie. Toekomstige studies zijn noodzakelijk om de klinische meerwaarde verder te onderzoeken.

TOEKOMSTPERSPECTIEF

Slechts enkele decennia geleden had de chirurg alleen de beschikking over zijn eigen zicht en tastzin om peroperatief kwaadaardige afwijkingen in het lichaam te

identificeren. De afgelopen jaren zijn er veel beeldvormende technieken ontwikkeld (zoals Echo, CT, MRI en PET/SPECT) waarmee de aanwezigheid en uitgebreidheid van een kwaadaardig gezwel accuraat vast te stellen is. Peroperatief blijft de chirurg nog voornamelijk afhankelijk van zijn eigen zintuigen om de uitgebreidheid van een kwaadaardig gezwel vast te stellen ¹.

NIR fluorescentie maakt het mogelijk om de chirurg tijdens de ingreep van *real-time* informatie te voorzien en kan potentieel een belangrijke complementaire rol vervullen binnen de oncologische chirurgie.

In de afgelopen jaren zijn er belangrijke stappen gezet op het gebied van NIR fluorescentie geleide chirurgie. De ontwikkeling van experimentele camera-systemen en het gebruik van de klinisch goedgekeurde contrastmiddelen (ICG en methyleenblauw) hebben een belangrijke rol gespeeld bij de uitvoering van de eerste klinische trials ²⁻⁵. Voor de verdere ontwikkeling van deze techniek is de klinische beschikbaarheid van nieuwe tumor-specifieke contrastmiddelen echter van groot belang. Verschillende preklinische studies laten veelbelovende resultaten zien met nieuw ontwikkelde tumor-specifieke contrastmiddelen ⁶⁻⁹. Een van de belangrijkste uitdagingen in het huidige stadium is de translatie van deze stoffen naar de kliniek. Dit is echter een zeer kostbaar en tijdrovend proces, te meer omdat elk nieuw contrastmiddel apart moet worden gevalideerd voor humaan gebruik.

Een nadeel van NIR fluorescentie is dat de identificatie van diepgelegen structuren in het weefsel vaak niet mogelijk is ¹⁰⁻¹². Om te compenseren voor de beperkte dieptepenertratie van NIR fluorescentie is recent een hybride tracer getest, die zowel fluorescente als radioactieve eigenschappen bezit (hoofdstuk 7, 8 en 12) ¹³⁻¹⁶. Deze tracer bevat ICG en de radioactieve tracer ^{99m}Tc-nanocolloid, die beiden beschikbaar zijn voor klinisch gebruik.

Thans is de behandeling van verschillende soorten kanker, zoals het mamma- en colorectaal carcinoom, multidisciplinair georganiseerd met gestandaardiseerde chirurgische-, neo-adjuvante- en pathologische protocollen ¹⁷⁻¹⁹. Het *finetunen* van de relatie tussen de diagnose, de (neo)-adjuvante therapie en de resectie, heeft de potentie om postoperatieve morbiditeit te verminderen en overleving te verbeteren. Moleculaire beeldvorming, zowel preoperatief (bv. met tumor specifieke PET tracer / fotoakoestische therapie) als peroperatief (bv. met NIR fluorescentie) kan een cruciale rol gaan spelen in dit proces, waarbij idealiter één (hybride) radioactief en fluorescent contrastmiddel wordt gebruikt om zowel de preoperatieve als peroperatieve beeldvorming te verzorgen.

Naast de beeldvorming van structuren die moeten worden verwijderd (zoals tumorweefsel en schildwachtklieren) is het van cruciaal belang om tijdens de operatie structuren te identificeren welke gespaard moeten worden (zoals zenuwen, galwegen en de urineleiders) ^{5,20}. De biodistributie en het klaringspatroon van ICG en methy-

leenblauw maakt het mogelijk om deze stoffen te gebruiken voor de beeldvorming van de respectievelijk de galwegen en de urineleiders. Door de lage incidentie van iatrogene letsels aan galwegen en urineleiders zal deze techniek vooral van meerwaarde zijn als aanvulling op de beeldvorming van aangrenzend maligne weefsel. Gebaseerd op het klaringspatroon blijkt het mogelijk te zijn om tumor specifieke contrastmiddelen óók te gebruiken voor de identificatie van vitale structuren²¹. Dit kan in het bijzonder van meerwaarde zijn tijdens laparoscopische lever- of colorectale chirurgie.

Een andere belangrijke factor voor de klinische toepasbaarheid van deze techniek is de verdere ontwikkeling van speciale NIR fluorescentie camerasystemen, zeker gezien het feit dat een groot deel van de tot nu toe gebruikte systemen zich nog in een experimenteel stadium bevindt. Daarbij zal het focus eveneens op het gebruiksgemak en op de betaalbaarheid moeten liggen.

Gedurende de afgelopen 15 jaar heeft de laparoscopische chirurgie veel terrein gewonnen en behoort het tot de standaardzorg voor een toenemend aantal chirurgische ingrepen. De integratie van *Image-Guided Surgery* binnen de laparoscopie is dan ook een logische vervolgstap, mede gelet op het feit dat de laparoscopie is gebaseerd op het gebruik van camera-systeem, beeldverwerking en monitor, waarbij de mogelijkheid ontbreekt om de tumor peroperatief te palperen.

Concluderend kan worden gesteld dat nieuwe beeldgeleide modaliteiten de potentie hebben om een belangrijke rol in de chirurgische behandeling van kankerpatiënten te vervullen. Verdere ontwikkeling van contrastmiddelen en camerasystemen is echter noodzakelijk om het volle potentieel en het patiëntvoordeel van NIR fluorescentie aan te tonen. Ondanks de veelbelovende resultaten die reeds zijn behaald, zal het in de komende jaren duidelijk moeten worden of *Image-Guided Surgery* met NIR fluorescentie een voordeel biedt in de dagelijkse chirurgische praktijk.

REFERENTIES

1. Vahrmeijer AL, Frangioni JV. Seeing the invisible during surgery. *Br J Surg* 2011; 98:749-750.
2. Gioux S, Choi HS, Frangioni JV. Image-guided surgery using invisible near-infrared light: fundamentals of clinical translation. *Mol Imaging* 2010; 9:237-255.
3. Schaafsma BE, Mieog JSD, Hutteman M et al. The clinical use of indocyanine green as a near-infrared fluorescent contrast agent for image-guided oncologic surgery. *J Surg Oncol* 2011; in press.
4. van der Vorst JR, Schaafsma BE, Verbeek FP et al. Intraoperative Near-Infrared Fluorescence Imaging of Parathyroid Adenomas using Low-Dose Methylene Blue. *Head Neck* 2013.
5. Verbeek FP, van der Vorst JR, Schaafsma BE et al. Intraoperative near infrared fluorescence guided identification of the ureters using low dose methylene blue: a first in human experience. *J Urol* 2013; 190:574-579.
6. Luo S, Zhang E, Su Y et al. A review of NIR dyes in cancer targeting and imaging. *Biomaterials* 2011; 32:7127-7138.
7. Oliveira S, van Dongen GA, Stigter-van WM et al. Rapid visualization of human tumor xenografts through optical imaging with a near-infrared fluorescent anti-epidermal growth factor receptor nanobody. *Mol Imaging* 2012; 11:33-46.
8. Choi HS, Gibbs SL, Lee JH et al. Targeted zwitterionic near-infrared fluorophores for improved optical imaging. *Nat Biotechnol* 2013; 31:148-153.
9. Bunschoten A, Buckle T, Visser NL et al. Multimodal Interventional Molecular Imaging of Tumor Margins and Distant Metastases by Targeting alpha(v) beta(3) Integrin. *ChemBioChem* 2012; 13:1039-1045.
10. Frangioni JV. In vivo near-infrared fluorescence imaging. *Curr Opin Chem Biol* 2003; 7:626-634.
11. Vahrmeijer AL, Hutteman M, van der Vorst JR et al. Image-guided cancer surgery using near-infrared fluorescence. *Nat Rev Clin Oncol* 2013.
12. Verbeek FP, Troyan SL, Mieog JS et al. Near-infrared fluorescence sentinel lymph node mapping in breast cancer: a multicenter experience. *Breast Cancer Res Treat* 2014; 143:333-342.
13. van der Poel HG, Buckle T, Brouwer OR et al. Intraoperative Laparoscopic Fluorescence Guidance to the Sentinel Lymph Node in Prostate Cancer Patients: Clinical Proof of Concept of an Integrated Functional Imaging Approach Using a Multimodal Tracer. *Eur Urol* 2011; 60:826-33.
14. Schaafsma BE, Verbeek FP, Rietbergen DD et al. Clinical trial of combined radio- and fluorescence-guided sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *Br J Surg* 2013; 100:1037-1044.
15. van Leeuwen AC, Buckle T, Bendle G et al. Tracer-cocktail injections for combined pre- and intraoperative multimodal imaging of lymph nodes in a spontaneous mouse prostate tumor model. *J Biomed Opt* 2011; 16:016004.
16. Brouwer OR, van den Berg NS, Matheron HM et al. A hybrid radioactive and fluorescent tracer for sentinel node biopsy in penile carcinoma as a potential replacement for blue dye. *Eur Urol* 2014; 65:600-609.
17. Kapiteijn E, Marijnjen CA, Nagtegaal ID et al. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *N Engl J Med* 2001; 345:638-646.

18. van Gijn W, Marijnen CA, Nagtegaal ID et al. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer: 12-year follow-up of the multicentre, randomised controlled TME trial. *Lancet Oncol* 2011; 12:575-582.
19. Mieog JS, van der Hage JA, van de Velde CJ. Preoperative chemotherapy for women with operable breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;CD005002.
20. Verbeek FP, van der Vorst JR, Schaafsma BE et al. Image-guided hepatopancreatobiliary surgery using near-infrared fluorescent light. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19:626-637.
21. Verbeek FP, van der Vorst JR, Schaafsma BE et al. Intraoperative Near-Infrared Fluorescence-Guided Identification of the Ureters using Low-Dose Methylene Blue: A First-in-Human Experience. *J Urol* 2013; 190:574-579.