



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Improving breast cancer outcome by preoperative systemic therapy and image-guided surgery

Mieog, J.S.D.

Citation

Mieog, J. S. D. (2011, October 26). *Improving breast cancer outcome by preoperative systemic therapy and image-guided surgery*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/17983>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/17983>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Chapter 14

Nederlandse samenvatting

Borstkanker is de meest voorkomende kankersoort bij vrouwen en veroorzaakt de grootste kankergerelateerde sterfte onder vrouwen. Hoewel de incidentie van borstkanker nog steeds stijgt, is het sterftecijfer de laatste decennia afgenomen voornamelijk als gevolg van verbetering van systemische therapie. Desondanks blijft chirurgisch ingrijpen de hoeksteen van de curatieve behandeling van borstkanker.

De chirurgische behandeling van borstkanker heeft de afgelopen eeuw een sterke verandering doorgemaakt, waarbij deze steeds minder uitgebreid is geworden en daardoor patiëntvriendelijker. In 1907 werd door de Amerikaanse chirurg William S. Halsted een serie patiënten beschreven die dankzij een radicale mastectomie een uitstekende lokale controle kende. Bij deze operatie werden de borstklier, beide pectoralisspieren en alle relevante lymfklierstations *en bloc* verwijderd hetgeen gepaard ging met een grote morbiditeit. Om de morbiditeit te verminderen werd de radicale mastectomie gemodificeerd naar een operatie waarbij de pectoralisspieren gespaard bleven, de gemodificeerde radicale mastectomie. In de jaren zeventig van de vorige eeuw werd borstsparende chirurgie in combinatie met radiotherapie geïntroduceerd. Dit leidde tot een betere cosmetische uitkomst en een verbetering van het zelfbeeld van de patiënt. In 1994 werd de schildwachtklierprocedure geïntroduceerd waardoor een okselklierdissectie slechts bij patiënten met een positieve schildwachtklier wordt uitgevoerd. In deze paradigmaverschuiving naar een meer conservatieve chirurgische benadering past het concept van preoperatieve systemische (ook wel neoadjuvante) therapie, omdat hierbij de systemische therapie voorafgaand aan de operatie wordt gegeven om de tumor te verkleinen en daarmee de chirurgische mogelijkheden tot minder invasief opereren vergroot.

De belangrijkste uitdaging bij de chirurgische behandeling van borstkanker is het volledig verwijderen van het tumorweefsel met in achtneming van een adequate tumorvrije marge en een acceptabel cosmetisch resultaat. Echter, de chirurg moet vertrouwen op zijn zicht en gevoel om een onderscheid te maken tussen tumor- en normaal weefsel. Bij borstsparende operaties is dit bijzonder lastig, getuige het feit dat een onvolledige (irradicale) resectie in 5-40% van de gevallen voorkomt. Irradicale resecties kunnen leiden tot lokale terugkeer van de ziekte, hetgeen geassocieerd is met een slechtere overleving. Een techniek die tijdens de operatie specifiek tumorcellen visualiseert om de chirurg te helpen de optimale resectievlakken te kiezen zou daarom van grote meerwaarde kunnen zijn. Fluorescente beeldvorming met nabij-infrarood licht is een techniek die voor dit doel zeer geschikt lijkt.

Dit proefschrift bestaat uit twee delen. In **deel I** werd de effectiviteit van neoadjuvante therapie en de aanvullende waarde van het meten van de tumorrespons beoordeeld. Bovendien werd onderzocht of kankerstemcellen van invloed zijn op de prognose van borstkankerpatiënten. In **deel II** werd de techniek van de nabij-infrarode fluorescente beeldvorming preklinisch gevalideerd en geïntroduceerd in de kliniek.

DEEL I: NEOADJUVANTE THERAPIE, TUMORRESPONS EN KANKERSTAMCELLEN

Hoofdstuk 1 geeft een algemene inleiding op dit proefschrift. In **Hoofdstuk 2** werd in een meta-analyse van gerandomiseerde studies aangetoond dat neoadjuvante chemotherapie vergeleken met adjuvante chemotherapie resulteert in een gelijke overleving en een toename van het aantal borstsparende operaties, terwijl de lokale controle gelijk blijft. Derhalve is in internationale richtlijnen geadviseerd om neoadjuvante chemotherapie toe te passen voor alle patiënten waarbij voorafgaand aan de operatie duidelijk is dat zij in aanmerking komen voor chemotherapie.

Dankzij neoadjuvante therapie kan uitstekend het biologisch gedrag van de tumor *in vivo* geanalyseerd worden. Immers de tumor is nog in het lichaam aanwezig en hierdoor kan de respons van de tumor op de systemische therapie direct bepaald worden. Dit in tegenstelling tot de adjuvante situatie, waarbij de therapie ‘blind’ wordt gegeven; de tumor is reeds verwijderd en de reactie van de tumor tijdens de behandeling kan niet worden bepaald. Hierdoor is het nog grotendeels onbekend welke vrouwen het meeste baat hebben van welke specifieke systemische therapie. In **Hoofdstuk 3** werd binnen een gerandomiseerd onderzoek van neoadjuvante chemotherapie bepaald welke tumormarkers een goede tumorrespons voorspellen. Hierbij bleek het tumorsuppressoreiwit p53 de gevoeligheid voor een anthracycline-bevattende chemotherapieschema goed te voorspellen.

In **Hoofdstuk 4** werd het effect van chemotherapie in relatie tot de hormoonreceptorstatus onderzocht in een grote groep jonge borstkankerpatiënten (< 40 jaar). Uit eerdere neoadjuvante studies is gebleken dat hormoonreceptornegatieve borstkanker beter reageert op chemotherapie dan tumoren met overexpressie van de hormoonreceptoren. Echter, borstkanker op jonge leeftijd is relatief zeldzaam (~ 5% van de gevallen), waardoor er weinig onderzoeksresultaten bekend zijn voor deze groep. Bovendien is door de slechtere overleving van deze patiëntengroep in de huidige richtlijnen jonge leeftijd als absolute indicatie voor het geven van chemotherapie opgenomen ongeacht de status van de hormoonreceptoren. Hierdoor bestaat de zorg van overbehandeling bij deze jonge (fertiele) patiëntengroep. De meta-analyse van Hoofdstuk 4 toont aan dat jonge vrouwen met hormoonreceptorpositieve borstkanker minder baat hebben bij chemotherapie dan die met hormoonreceptornegatieve borstkanker.

Hoofdstuk 5 laat zien dat de overleving van jonge vrouwen sterk afhankelijk is van het moleculaire subtype borstkanker en dat jonge patiënten met een gunstig subtype een uitstekende lange-termijn overleving hebben. Deze resultaten benadrukken dat tumorspecifieke prognostische kenmerken moeten worden meegenomen in het behandelingsplan van jonge borstkankerpatiënten.

Ondanks de recente verbeteringen in systemische en lokale behandeling ontwikkelt een substantieel deel van de borstkankerpatiënten een lokaal recidief of metastasen op afstand. Vaak ontstaan deze na een aanzienlijke follow-up tijd; soms pas 20 jaar na de operatie. Uit recent onderzoek is gebleken dat de kankerstamceltheorie dit falen van de behandeling kan verklaren. Binnen deze hypothese worden kankerstamcellen gezien als een kleine subpopulatie van tumorcellen met stamcelachtige kenmerken, zoals het overgaan van epitheel naar mesenchym, aanzetten tot differentiatie, het overleven van chemotherapie en bestraling door onder andere specifieke transporteiwitten en reparatie van DNA-schade. Expressie van het ontgiftende enzym aldehyde dehydrogenase-1 (ALDH1) wordt als één van de meest karakteristieke kenmerken van borstkankerstamcellen gezien. De kankerstamceltheorie zou ook een verklaring kunnen bieden voor de leeftijdsspecifieke verschillen in overleving van borstkanker, waarbij vroeg-optredende tumoren (< 65 jaar) vaak agressiever zijn en snel metastaseren, terwijl laat-optredende tumoren (> 65 jaar) meer indolent zijn.

Het onderzoek in **Hoofdstuk 6** toont aan dat de expressie van ALDH1 omgekeerd evenredig is met de leeftijd bij diagnose van borstkanker. Bij patiënten jonger dan 65 jaar was ALDH1 expressie sterk geassocieerd met een slechtere overleving, terwijl bij patiënten ouder dan 65 jaar ALDH1 status geen effect had op de overleving. Dit onderzoek onderstreept de verschillen in borstkankerbiologie tussen jonge en oude patiënten, hetgeen deels verklaard kan worden door verschillen in cellulaire mechanismen betrokken bij kankerstamcelactiviteit.

In **Hoofdstuk 7** werd de rol van het stollingseiwit tissue factor (TF) en zijn alternatief-gesplitste variant (asTF) bij de formatie en groei van borstkankerstamcellen onderzocht. Beide eiwitten worden tot expressie gebracht in een groot aantal tumortypen. De activiteit van TF verloopt via een protease activated receptor-2 (PAR2) pathway, terwijl de activiteit van asTF via een integrine-afhankelijke pathway verloopt. De resultaten van Hoofdstuk 7 tonen aan dat ALDH1 expressie sterk geassocieerd is met TF expressie en niet met asTF expressie, hetgeen suggereert dat de TF-PAR2 pathway van belang is voor de activiteit van borstkankerstamcellen. Het specifiek beïnvloeden van deze pathway door nieuwe medicijnen zou theoretisch de kankerstamcellen kunnen aanpakken, hetgeen zou kunnen leiden tot verbetering van overleving van borstkankerpatiënten.

DEEL II: IMAGE-GUIDED SURGERY

In deel II van dit proefschrift werd de intraoperatieve beeldvormende techniek van nabij-infrarood (NIR) fluorescentie onderzocht. Nabij-infrarood (NIR) licht heeft een golflengte tussen de 700 en 900 nm, hetgeen voor het menselijk oog niet zichtbaar is. Het grote voordeel van NIR licht is dat het minder wordt geabsorbeerd door weefsel, waardoor de weefselpenetratie groter is (tot enkele cm's) dan dat van zichtbaar licht.

Daarnaast is de techniek veilig en vindt de beeldacquisitie in milliseconden plaats, waardoor het 'real-time' toegepast kan worden. Bovendien wordt het operatieveld niet beïnvloed door het NIR licht, omdat het niet zichtbaar is voor het menselijk oog. Voor de intraoperatieve detectie van tumoren zijn tumorspecifieke, NIR fluorescente contrastmiddelen (probes) nodig en camerasystemen om deze stoffen zichtbaar te maken.

In **Hoofdstuk 8** werd een nieuw, 'hand-held', intraoperatief NIR fluorescentie camerasysteem getest. Met nieuw ontwikkelde methodes werd zowel *in vitro* als *in vivo* de minimale detectielimieten, resolutie en intraoperatieve toepasbaarheid bepaald met behulp van een protease-geactiveerde NIR fluorescente probe en twee syngene ratmodellen.

In **Hoofdstuk 9** werd dit camerasysteem gebruikt om in een syngene borstkankerratmodel orthotope borsttumoren te detecteren met een protease-geactiveerde NIR fluorescente probe. Op geleide van het NIR fluorescente beeld werden alle tumoren compleet geresceerd met een minimale hoeveelheid normaal weefsel (gemiddelde minimale en maximale tumorvrije marge van respectievelijk 0.2 ± 0.2 mm en 1.3 ± 0.6 mm).

In **Hoofdstuk 10** werd het gebruik van monoclonale antilichamen gekoppeld aan een NIR fluorescente kleurstof uitgetest in hetzelfde syngene ratmodel. Dit onderzoek toonde aan dat zowel de specifieke als de aspecifieke antilichamen een adequate detectie van borsttumoren faciliteerden, waardoor alle tumoren compleet geresceerd konden worden. Het feit dat ook de aspecifieke antilichamen een goed contrast gaven, kan verklaard worden door het zogenaamde 'enhanced permeability and retention effect'. Hierbij concentreren de stoffen zich in de tumor door passieve accumulatie.

Deze preklinische onderzoeken toonden de potentie van NIR fluorescente beeldvorming aan voor de intraoperatieve detectie en succesvolle resectie van tumoren in een borstkankerratmodel. Zodra de NIR fluorescente probes goedgekeurd worden voor klinische toepassing kan de waarde van NIR fluorescente beeldvorming bij de operatieve behandeling van borstkankerpatiënten bepaald worden.

Naast de intraoperatieve tumordetectie biedt NIR fluorescente beeldvorming de mogelijkheid om de schildwachtklieprocedure te verbeteren. De schildwachtklier is de eerste lymfeklier waar een tumor op draineert. Als deze klier geen tumorcellen bevat is de kans zeer groot dat de andere lymfeklieren ook geen metastasen bevatten, waardoor een ingrijpende okselklierdissectie achterwege kan worden gelaten. Om de schildwachtklier te vinden wordt tegenwoordig een radioactieve stof en een blauwe kleurstof rondom de borsttumor ingespoten. NIR fluorescente beeldvorming kan met de klinisch goedgekeurde NIR probe indocyaninegroen (ICG) een aanvulling vormen op de huidige schildwachtklier-procedure of zelfs de huidige modaliteiten vervangen. Preklinisch onderzoek heeft laten zien dat als ICG aan humaan serum albumine (HSA)

gekoppeld wordt de eigenschappen als lymfetracer verbeterd worden door een betere retentie in de schildwachtklier en een verhoogde fluorescentie.

In **Hoofdstuk 11** werd een nieuw, intraoperatief camerasysteem gebruikt dat zowel het normale kleurenbeeld als het NIR fluorescente beeld registreert, om de geïnjecteerde dosis ICG:HSA te optimaliseren bij borstkankerpatiënten. De schildwachtklier werd bij alle patiënten succesvol geïdentificeerd. De optimale dosis ICG:HSA lag tussen 400 en 800 μM . Bovendien werden de lymfebanen en in sommige gevallen de schildwachtklier percutaan gevisualiseerd.

In **Hoofdstuk 12** werd onderzocht of het vooraf koppelen van HSA aan ICG noodzakelijk is of dat injectie van alleen ICG een even goed resultaat levert. In dit geblindeerd, gerandomiseerd onderzoek werd geen verschil gevonden in fluorescent contrast of het aantal gevonden schildwachtklieren tussen de ICG:HSA groep en de ICG alleen groep. Vooraf koppelen van ICG aan HSA is dus overbodig. Dit kan verklaart worden doordat ICG zich snel bindt aan de in de lymfe aanwezige eiwitten. Deze resultaten zullen de introductie in de kliniek aanzienlijk vergemakkelijken. Of NIR fluorescente beeldvorming de radioactieve tracer en de blauwe kleurstof kan vervangen wordt momenteel door onze groep onderzocht (NTR2674).

CONCLUSIES

Neoadjuvante therapie moet als een geaccepteerde behandelingsmodaliteit van borstkanker beschouwd worden. Deze therapievorm maakt meer borstsparende operaties mogelijk en geeft gelijke overlevingscijfers en lokale controle ten opzichte van adjuvante therapie. Daarnaast biedt neoadjuvante therapie de mogelijkheid om bij tumorresistentie van therapie te veranderen en faciliteert het translationeel onderzoek waardoor een belangrijke bijdrage geleverd wordt aan de verdere ontwikkeling van geïndividualiseerde behandelplannen voor borstkankerpatiënten.

NIR fluorescente beeldvorming is een sensitieve techniek om tijdens de operatie specifiek tumor- en normaalweefsel te visualiseren om de optimale tumorvrije marges te bepalen en de schildwachtklierprocedure te verbeteren. In de komende jaren moet blijken of deze vorm van “image-guided surgery” daadwerkelijk de chirurgische behandeling van kankerpatiënten kan optimaliseren om daarmee een verbetering van de overleving en kwaliteit van leven te bereiken.