



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Safeguarding ovarian tissue autotransplantation in cancer patients

Peters, I.T.A.

Citation

Peters, I. T. A. (2018, January 10). *Safeguarding ovarian tissue autotransplantation in cancer patients*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/58923>

Version: Not Applicable (or Unknown)

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/58923>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/58923> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Peters I.T.A.

Title: Safeguarding ovarian tissue autotransplantation in cancer patients

Issue Date: 2018-01-10

Appendices

Summary

Nederlandse samenvatting

List of abbreviations

Authors and affiliations

List of publications

Dankwoord

Curriculum Vitae

Dankzij verbeterde screeningsmethoden en nieuwe behandeltechnieken is de kans op het overleven van kanker de laatste decennia enorm toegenomen. Tot deze nieuwe behandeltechnieken behoren onder andere chemotherapie en bestraling. Helaas hebben bestraling op het bekken en sommige vormen van chemotherapie een schadelijk effect op de eierstokken en kunnen zij leiden tot vroegtijdige uitval van de eierstokfunctie. Hierdoor ontstaan klachten die gerelateerd zijn aan een tekort aan oestrogenen, zoals osteoporose (botontkalking), een verhoogd risico op hart- en vaatziekten, vasomotorische symptomen (onder andere opvliegers en hartkloppingen) en verminderde emotionele gesteldheid. Daarnaast kunnen deze behandelingen resulteren in een verminderde vruchtbaarheid of onvruchtbaarheid. Het risico op een verminderde vruchtbaarheid en onvruchtbaarheid neemt toe met de leeftijd en is gerelateerd aan het type chemotherapeutikum, de dosering en de duur van de behandeling. Al deze gevolgen hebben een negatieve invloed op de kwaliteit van leven van jonge vrouwen met kanker.

Om jonge vrouwen met kanker de nadelige effecten van deze behandelingen te besparen, is een aantal vruchtbaarheidssparende behandelingen ontwikkeld. De huidige vruchtbaarheidssparende behandelingen zijn het invriezen van embryo's, eicellen, of eierstokweefsel. Het invriezen van embryo's en het invriezen van eicellen zijn erkende methoden die algemeen beschikbaar zijn. Zij kennen echter enkele nadelen. Ten eerste is hormonale stimulatie nodig om eicellen te verkrijgen. Dit heeft tot gevolg dat deze methoden noch geschikt zijn voor jonge meisjes bij wie de menstruele cyclus nog niet op gang is, noch voor vrouwen die onvoldoende tijd hebben om hormonale stimulatie te ondergaan. Ten tweede kan de eierstokfunctie door middel van deze methoden niet worden hersteld. Het invriezen van eierstokweefsel biedt mogelijk uitkomst.

Invriezen en terugplaatsen van eierstokweefsel

Voor jonge meisjes en vrouwen die direct moeten starten met chemotherapie en/of bestraling vanwege een agressieve vorm van kanker is het invriezen van eierstokweefsel de enige optie. Bovendien is het de enige vruchtbaarheidssparende behandeling waarmee de eierstokfunctie kan worden hersteld. Om in aanmerking te komen voor het invriezen van eierstokweefsel moet aan een aantal criteria worden voldaan. Deze criteria zijn onder andere: leeftijd < 35 jaar, een goede eierstokreserve, een realistische kans op overleving en een hoog geschat risico op uitval van de eierstokfunctie door de oncologische behandeling (> 50%). Overigens zijn deze selectiecriteria indicatief. Het invriezen van eierstokweefsel is in het verleden ook uitgevoerd bij vrouwen die iets ouder waren dan 35 jaar.

Het eierstokweefsel wordt bij voorkeur ingevroren voordat de behandeling met chemotherapie en/of bestraling plaatsvindt. Tijdens een kijkoperatie wordt één van de eierstokken verwijderd. Deze eierstok wordt vervolgens naar het laboratorium gebracht. Aldaar wordt de eierstok gehalveerd en het merg (de binnenzijde van de eierstok) verwijderd. De overgebleven schors (de buitenzijde van de eierstok die de rustende eicellen bevat) wordt dunner gemaakt

tot een dikte van 1-2 mm en in fragmenten gesneden van 5-10 mm doorsnede. Vervolgens worden de eierstokfragmenten ingevroren en opgeslagen in vloeibare stikstof (-196 °C). Als na de behandeling van de patiënte sprake blijkt te zijn van een verminderde eierstokfunctie en de patiënte een kindervens heeft, kunnen de eierstokfragmenten worden ontdooid en worden teruggeplaatst in de achtergebleven eierstok en/of het buikvlies (orthotope terugplaatsing), of in de buikwand of de onderarm (heterotope terugplaatsing). Herstel van de menstruele cyclus na terugplaatsing van eierstokweefsel werd voor het eerst beschreven in 2001, gevolgd door de eerste levendgeborene in 2004. Tot op heden zijn wereldwijd meer dan 86 levendgeborenen gerapporteerd, deels na spontane conceptie en deels na in vitro fertilisatie (IVF). In Nederland is in 2015 de eerste baby geboren na terugplaatsing van eierstokweefsel in het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC). Bij 93% van de patiënten treedt na terugplaatsing van het eierstokweefsel herstel van de eierstokfunctie op.

Experimentele aard

Ondanks deze veelbelovende resultaten wordt terugplaatsing van ontdooid eierstokweefsel wereldwijd als experimenteel beschouwd. In ons land heeft Zorginstituut Nederland op 30 november 2016 een brief geschreven aan mevrouw Schippers, destijds minister van Volksgezondheid, Wetenschap en Sport, waarin werd geconcludeerd dat het invriezen en terugplaatsen van ovariumweefsel niet voldoet aan de stand van de wetenschap en praktijk. De achterliggende reden is tweeledig: in de eerste plaats is de effectiviteit nog onduidelijk, omdat zwanger worden ook mogelijk is bij een verminderde vruchtbaarheid en de eierstokfunctie na behandeling met chemotherapie soms spontaan herstelt. In de tweede plaats is de veiligheid van deze methode nog onvoldoende in kaart gebracht bij bepaalde vormen van kanker die naar de eierstokken kunnen uitzaaien. Het gaat hierbij om het risico op het herintroduceren van tumorcellen bij het terugplaatsen van eierstokweefsel.

Bezorgdheid omtrent de veiligheid van terugplaatsing van eierstokweefsel

De veiligheid van het terugplaatsen van eierstokweefsel kan tot op heden niet worden gegarandeerd. Dit komt doordat de huidige tumordetectiemethoden (histologie/immunohistochemie, PCR-analyse, xenotransplantatie) het eierstokweefsel ongeschikt maken voor terugplaatsing. Om die reden wordt op dit moment een beperkt aantal eierstokfragmenten onderzocht dat niet wordt teruggeplaatst. Men gaat er dan van uit dat deze onderzochte fragmenten representatief zijn voor de gehele eierstok. Of de eierstokfragmenten die wel worden teruggeplaatst tumorcellen bevatten, blijft echter onduidelijk. Het zou dus kunnen dat er met het terugplaatsen van eierstokweefsel tumorcellen worden geherintroduceerd, waardoor een patiënte mogelijk opnieuw kanker krijgt.

Evaluatie van de huidige tumordetectieprocedure

Om te bepalen of met het testen van één of twee eierstokfragmenten die niet worden teruggeplaatst voorspeld kan worden of tumorcellen afwezig zijn in het eierstokweefsel dat wel wordt teruggeplaatst, is het belangrijk om te weten hoe de uitgezaaide tumorcellen zich in het eierstokweefsel presenteren en waar zij zich exact bevinden. Dit kan worden geïllustreerd aan de hand van de volgende twee voorbeelden. Indien tumorcellen diffuus en homogeen verspreid zijn in het eierstokweefsel is het onderzoeken van één of twee eierstokfragmenten voldoende om na te gaan of tumorcellen aanwezig zijn in de eierstokfragmenten die worden teruggeplaatst. In dat geval kan de huidige tumordetectieprocedure als voldoende nauwkeurig worden beschouwd. Daarentegen is de huidige tumordetectieprocedure onbetrouwbaar als uitzaaiingen slechts in een beperkt gebied in de schors van de eierstok voorkomen. Dan bestaat de kans dat de eierstokfragmenten die onderzocht worden als tumorvrij worden afgegeven, terwijl eierstokfragmenten die worden teruggeplaatst uitgezaaide tumorcellen bevatten ('sampling error').

Non-invasieve tumordetectiemethoden

Een mogelijke benadering om eierstokfragmenten op een veilige manier terug te plaatsen is om methoden te ontwikkelen waarmee de aanwezigheid van uitzaaiingen kan worden uitgesloten zonder schade te berokkenen aan de vitaliteit van het weefsel. Twee nieuwe technieken zijn mogelijk voor dit doeleinde geschikt: nabij-infrarode fluorescente beeldvorming en full-field optische coherentietomografie.

Nabij-infrarode fluorescente beeldvorming

Nabij-infrarode fluorescente (NIRF-)beeldvorming kan worden gebruikt om 'real time' onderscheid te maken tussen kwaadaardig en goedaardig weefsel zonder het onderzochte weefsel aan te tasten. Het voordeel van NIR-licht ten opzichte van zichtbaar licht is dat het licht dieper in het weefsel dringt, waardoor het mogelijk is om dieper gelegen structuren te bekijken. Daarnaast geeft NIR-licht een lagere autofluorescentie van het normale weefsel waardoor voldoende contrast ontstaat. Omdat het humane oog ongevoelig is voor NIR-licht is een camerasysteem noodzakelijk om het fluorescente licht te kunnen waarnemen. Dit camerasysteem is uitgerust met een lichtbron dat een fluorofoor (een fluorescerende stof) aanstraalt, waarna een fluorescent signaal wordt uitgezonden.

Op het gebied van de oncologische chirurgie wordt NIRF-beeldvorming reeds gebruikt om met behulp van de fluorescente stoffen indocyanine groen en methyleenblauw weefsels te identificeren die moeten worden verwijderd, zoals kwaadaardige tumoren en aangedane lymfeklieren, en structuren te herkennen die moeten worden gespaard, zoals urineleiders en galwegen. Door de toegenomen vaatvorming en afgenomen lymfeafvoer bij kanker passeren deze fluorescente stoffen de haarvaten en hopen zij zich op in het weefsel rondom de tumor, waardoor tumorlokalisaties aan het licht kunnen worden gebracht.

NIRF-gelabelde tumor-specifieke probes kunnen worden gebruikt om tumorcellen nog nauwkeuriger op te sporen. Deze tumor-specifieke probes bestaan uit twee componenten: antilichamen of peptiden die met hoge affiniteit aan eiwitten op de celmembraan van tumorcellen binden en een fluorofoor dat licht uitzendt in het NIRF-spectrum ($\lambda = 700\text{-}900\text{ nm}$). Bij patiënten met eierstokkanker blijken uitzaaiingen beter te kunnen worden opgespoord na toediening van tumor-specifieke fluorescente probes. Dergelijke tumor-specifieke fluorescente probes zouden ook gebruikt kunnen worden om tumorcellen in eierstokweefsel te detecteren.

Om deze techniek te gebruiken voor de detectie van tumorcellen in eierstokfragmenten zou preoperatief een tumor-specifieke NIRF-probe intraveneus aan een patiënte met kanker kunnen worden toegediend. Nadat de eierstok verwijderd is, kunnen de eierstokfragmenten worden verkregen. Omdat deze fragmenten doorgaans een doorsnede hebben van 5-10 mm en een dikte van 1-2 mm is een beeldvormingssysteem noodzakelijk waarmee gedetailleerde opnamen kunnen worden gemaakt tot een weefseldiepte van ten minste 1 mm. Een multifotonmicroscopie lijkt hiervoor zeer geschikt te zijn, aangezien deze ontwikkeld is om een fluorescent signaal in de diepte te detecteren.

Full-field optische coherentietomografie

Full-field optische coherentietomografie (FF-OCT) maakt binnen afzienbare tijd histologie-achtige afbeeldingen van verse weefselfragmenten tot een weefseldiepte van 500 μm . Het beeldvormingssysteem bestaat uit een staande microscoop en een referentiearm in een Linnik interferometrische opstelling. FF-OCT detecteert teruggekaatst licht in weefsel. Het te onderzoeken weefsel wordt onder het objectief geplaatst. Om te bepalen op welke diepte in het weefsel het licht wordt teruggekaatst, wordt het licht zowel naar het weefsel uitgezonden als naar een referentiespiegel. Vervolgens wordt het licht gecombineerd ontvangen door een detector en wordt een afbeelding gemaakt. FF-OCT kan, in tegenstelling tot de conventionele detectiemethoden, worden verricht zonder het weefsel te fixeren, in te vriezen of te kleuren, waardoor het weefselbeschadiging kan voorkomen.

Dit proefschrift

Dit proefschrift richt zich op de veiligheid van het terugplaatsen van ontdooid eierstokweefsel. Het doel is om de nauwkeurigheid van de huidige tumordetectieprocedure in kaart te brengen en de noodzaak voor een alternatieve methode te bepalen waarmee het mogelijk is om ieder terug te plaatsen eierstokfragment te onderzoeken. Daarnaast heeft dit proefschrift tot doel na te gaan of NIRF-beeldvorming en FF-OCT mogelijk geschikt zijn als alternatieve detectiemethoden. Centraal in dit proefschrift staan studies gewijd aan uitzaaiingen in de eierstokken bij patiënten met borstkanker, aangezien de meeste patiënten van wie eierstokweefsel wordt ingevroren met borstkanker gediagnosticeerd zijn, en relatief veel eierstokweefsel van deze patiënten beschikbaar is voor onderzoek. Dit komt doordat bij borstkankerpatiënten de eierstokken vaak uit voorzorg

of in het kader van de behandeling bij hormoongevoelige borsttumoren worden verwijderd om hormonale stimulatie van de borsttumor te voorkomen.

In **hoofdstuk 1** wordt een gedetailleerd literatuuroverzicht gegeven van de lokalisatie en de vorm van uitzaaiingen in de eierstok. Hierbij lag de focus op uitzaaiingen die afkomstig zijn van de verschillende vormen van kanker waarbij eierstokweefsel wordt ingevroren. Deze vormen zijn borstkanker, baarmoederhalskanker, baarmoederkanker, darmkanker, leukemie, Hodgkin- en non-Hodgkin-lymfoom, en bot- en wekedelenkanker. Uit dit literatuuronderzoek bleek dat uitzaaiingen beperkt kunnen zijn tot een bepaald gebied in de buitenzijde van de eierstok. Dit impliceert dat de huidige tumordetectieprocedure niet nauwkeurig is door het te grote risico op een 'sampling error'.

Het onderzoek dat in **hoofdstuk 2** wordt beschreven had tot doel om na te gaan hoe vaak uitzaaiingen in de eierstok voorkomen bij jonge vrouwen met borstkanker. Hiertoe werd een landelijk cohort samengesteld van alle vrouwen die op de leeftijd < 41 jaar zijn gediagnosticeerd met borstkanker in de periode 2000-2010 in Nederland en bij wie de eierstokken na de diagnose borstkanker zijn verwijderd. Uit dit onderzoek bleek dat bij 63 van de in totaal 2642 vrouwen die aan deze criteria voldeden (2.4%) bij histologisch onderzoek uitzaaiingen in de eierstok werden aangetroffen. Dit percentage is mogelijk een onderrapportage, omdat alleen vrouwen werden bestudeerd die in het kader van de behandeling eierstokverwijdering ondergingen. Desalniettemin is dit percentage het meest exacte dat tot nu toe bekend is en geeft het een goede indruk van de ordegrootte van het probleem.

Daarnaast werden in dit onderzoek risicofactoren in kaart gebracht die een rol kunnen spelen bij de ontwikkeling van uitzaaiingen in de eierstok bij deze groep patiënten. Een opvallend verschil tussen de 63 cases en 2535 controles zonder uitzaaiingen in de eierstok in dit cohort was het tijdsinterval tussen de diagnose borstkanker en het verwijderen van de eierstok, namelijk respectievelijk 47.0 en 32.0 maanden ($p = 0.002$). Op basis van deze bevindingen concludeerden we dat het vroegtijdig verwijderen van de eierstok het risico op het ontwikkelen van uitzaaiingen in de eierstok aanzienlijk kan verminderen. Bovendien zou ons advies zijn om de eierstokfragmenten terug te plaatsen in de achtergebleven eierstok in plaats van, bijvoorbeeld, het buikvlies. Op deze manier bestaat de mogelijkheid om de eierstokfragmenten op een later tijdstip in het geheel te verwijderen, waardoor het risico op het ontwikkelen van uitzaaiingen in de eierstok eveneens kan worden verminderd. Multivariate logistische regressie analyses naar risicofactoren voor uitzaaiingen in de eierstokken werden verricht in een case-controle populatie die gematcht was op het tijdsinterval tussen de diagnose borstkanker en het verwijderen van de eierstokken. Deze analyses lieten zien dat het tumorstadium significant geassocieerd is met het ontwikkelen van uitzaaiingen in de eierstok ($p = 0.024$). Derhalve adviseren we een terughoudend beleid ten aanzien van het terugplaatsen van eierstokweefsel in jonge borstkankerpatiënten met tumoren > 5 cm en/of inflammatoire tumoren.

De eerste stap voor het ontwikkelen van tumor-specifieke NIRF-beeldvorming als nieuwe methode om uitzaaiingen in de eierstok te detecteren, is op zoek gaan naar eiwitten die specifiek tot expressie komen op de celmembranen van tumorcellen en afwezig zijn in het normale eierstokweefsel. Aangezien weefsel van borsttumoruitzaaingen in de eierstok niet direct beschikbaar was in het LUMC hebben we in **hoofdstuk 3** in eerste instantie een panel van acht membraaneiwitten onderzocht in invasieve borsttumoren. Deze borsttumoren waren afkomstig van borstkankerpatiënten die op grond van de inclusiecriteria zoals opgesteld door het Nederlands Netwerk Fertiliteitspreservatie (NNF) in aanmerking hadden kunnen komen voor het invriezen van eierstokweefsel. Op basis van dit onderzoek lijkt E-cadherine de meest geschikte marker voor de detectie van borsttumorcellen door middel van tumor-specifieke beeldvorming, aangezien E-cadherine op 94% van de invasieve borsttumorcellen in de 24 borsttumoren tot expressie kwam. In dit hoofdstuk hebben we tevens gekeken naar de expressie van deze markers in normaal eierstokweefsel van premenopauzale vrouwen. Geen van de acht geteste membraanmarkers kwam tot expressie in de stromacellen van het normale eierstokweefsel. Echter, alle markers, behalve CEA en uPAR, bleken aanwezig op epitheliale cellen van inclusiecysten. Dit zou betekenen dat een NIRF probe die gericht is tegen een van deze markers, niet alleen borsttumorcellen maar ook inclusiecysten zou doen oplichten.

In **hoofdstuk 4** hebben we de expressie van het bovengenoemde panel van membraaneiwitten onderzocht in borstkankeruitzaaingen in de eierstok. Dit weefsel was afkomstig van het eerder beschreven cohort dat bestaat uit patiënten met borstkanker op de leeftijd < 41 jaar in de periode 2000-2010 in Nederland. Uit dit onderzoek bleek dat uitzaaiingen in de eierstok afkomstig van invasieve ductolobulaire borsttumoren met één marker, namelijk EMA, kunnen worden opgespoord. Voor het opsporen van uitzaaiingen in de eierstok van invasieve ductale borsttumoren waren drie markers nodig, namelijk E-cadherine, EMA en Her2/neu. Ook voor de detectie van uitzaaiingen in de eierstok van invasieve lobulaire borsttumoren was een combinatie van markers gewenst; de combinatie EMA, Her2/neu en EpCAM bleek hier het meest geschikt te zijn.

Om te bepalen of de expressie van deze markers op de invasieve borsttumor kan voorspellen welke marker het meest geschikt is om de bijbehorende uitzaaiingen in de eierstok op te sporen, hebben we deze markers ook op de invasieve borsttumoren van deze patiënten onderzocht. Tussen de expressie van de markers op de invasieve borsttumoren en de bijbehorende uitzaaiingen in de eierstok kon geen correlatie worden aangetoond. Dit levert echter geen beperkingen op voor de klinische toepassing. De meest geschikte markercombinatie kan immers worden bepaald zodra de patholoog het histologische subtype van de invasieve borsttumor heeft vastgesteld.

Naar aanleiding van het literatuuronderzoek in hoofdstuk 1, hebben we in hoofdstuk 4 ook de lokalisatie en de vorm van de borsttumoruitzaaingen in de eierstok onderzocht. Hieruit bleek dat 71% van de borsttumoruitzaaingen in de eierstok bestaat uit een solitaire nodus of multipele

noduli die van elkaar worden onderscheiden door 'normaal' eierstokweefsel. Deze resultaten bevestigen de literatuurgegevens die werden beschreven in hoofdstuk 1. De bevindingen suggereren dat borsttumorcellen in de eierstok makkelijk kunnen worden gemist als de huidige tumordetectieprocedure zou worden toegepast. Er dient echter wel te worden vermeld dat de tijd tussen de diagnose borstkanker en het vaststellen van de uitzaaiingen in de eierstok in de patiënten in dit onderzoek gemiddeld 42 maanden was. Bij patiënten van wie eierstokweefsel daarentegen wordt ingevroren, wordt één van de eierstokken vlak na de diagnose borstkanker verwijderd. Het is derhalve aannemelijk dat uitzaaiingen in de eierstok van deze patiënten zich presenteren als micro-uitzaaiingen of losse tumorcellen. De kans dat deze uitzaaiingen worden gemist met de huidige tumordetectieprocedure lijkt derhalve nog groter. Aanvullend onderzoek is nodig om deze hypothese te bevestigen.

Uit het onderzoek dat beschreven is in **hoofdstuk 5** bleek dat FF-OCT uitzaaiingen in de eierstok zichtbaar kan maken. Bovendien bleek dat eicellen in verschillende ontwikkelingsstadia kunnen worden onderscheiden. Dit is gunstig, aangezien dit de mogelijkheid biedt om het aantal aanwezige rustende eicellen te bepalen. Dit aantal is sterk gerelateerd aan de kans op herstel van de eierstokfunctie. Met behulp van FF-OCT kunnen dus eierstokfragmenten worden geselecteerd die geen uitzaaiingen bevatten en bovendien een goede kans geven op herstel van de eierstokfunctie. Een kanttekening hierbij is dat uitzaaiingen en eicellen tot een weefseldiepte van maximaal 100 µm zichtbaar konden worden gemaakt. Deze beperkte weefselpenetratiediepte is zeer waarschijnlijk te wijten aan de grootschalige extracellulaire matrix in de eierstokfragmenten. De maximale weefseldiepte waarop uitzaaiingen en eicellen kunnen worden afgebeeld kan desalniettemin wel iets worden vergroot door de eierstokfragmenten van twee kanten te belichten. Bovendien is de verwachting dat het in de nabije toekomst mogelijk is om ook dieper gelegen structuren in de eierstokfragmenten af te beelden, aangezien FF-OCT sterk in ontwikkeling is. Een andere belangrijke bevinding van dit onderzoek was dat na kortdurende blootstelling aan FF-OCT de vitaliteit van zowel het eierstokweefsel als de eicellen behouden blijft. Ondanks het feit dat het ten gevolge van de beperkte weefselpenetratiediepte nog niet mogelijk is om alle uitzaaiingen en/of follikels met behulp van FF-OCT in de eierstok te detecteren, biedt FF-OCT een enorme verbetering ten opzichte van de huidige tumordetectietechnieken. FF-OCT is op dit moment immers de enige methode waarmee de eierstokfragmenten die daadwerkelijk worden teruggeplaatst kunnen worden onderzocht.

Toekomstperspectieven

In **hoofdstuk 6** worden de bevindingen van dit proefschrift samengevat en in een breder perspectief geplaatst. Tevens wordt ingegaan op de mogelijkheden voor toekomstig wetenschappelijk onderzoek. De haalbaarheid van NIRF-beeldvorming als nieuwe detectiemethode dient in eerste instantie in de preklinische setting te worden onderzocht. Hoewel het uiteindelijk noodzakelijk zal zijn om meerdere markers te combineren om alle borsttumorcellen in de eierstokken te kunnen detecteren, dienen deze studies zich in eerste instantie te richten op één tumor-specifieke probe om na te gaan of het principe werkt. Aangezien E-cadherine in 91 % van de ductale borsttumorcellen in de eierstok tot expressie kwam (hoofdstuk 4) en de meerderheid van de borstkankerpatiënten gediagnosticeerd wordt met het ductale subtype, zou het zinvol zijn om een probe te ontwikkelen die specifiek gericht is tegen E-cadherine. Hiertoe kunnen antilichamen of peptiden tegen E-cadherine worden gebonden aan een fluorofoor die momenteel voor klinische toepassing beschikbaar is, bijvoorbeeld IRDye800CW (LI-COR Biosciences, Lincoln, NE) of ZW800-1 (The FLARE foundation, Wayland, MA). Daarnaast zouden antilichamen als trastuzumab (Herceptin; Genentech, San Francisco, CA) kunnen worden gelabeld aan IRDye 800CW om borsttumorcellen te detecteren die Her2/neu positief zijn. Dergelijke antilichamen hebben het voordeel dat zij reeds uitgebreid onderzocht en goedgekeurd zijn voor klinische toepassing. Nadat de bindingscapaciteit van de probes is vastgesteld, kunnen de probes in proefdieren worden getest. Voor dit doeleinde kunnen muizen worden gebruikt die geen afweersysteem hebben. In de eierstokken van deze muizen kunnen humane borsttumorcellen worden geïnjecteerd die positief zijn voor een van de markers waar tegen de tumor-specifieke NIRF-probe gericht is. Daarna kunnen de tumor-specifieke NIRF-probes intraveneus aan de muis worden toegediend en kan de binding van deze probe aan de membraaneiwwitten op de borsttumorcellen zichtbaar worden gemaakt door middel van multifotonmicroscopie of eventueel fotoakoestische beeldvorming. Fotoakoestische beeldvorming is een nieuwe beeldvormingstechniek die ultrageluidsgolven combineert met licht, waardoor het mogelijk is om nog dieper in het weefsel te kijken.

Wat betreft FF-OCT dient de sensitiviteit en specificiteit te worden vastgesteld waarmee uitzaaiingen in de eierstok gedetecteerd kunnen worden. Daarnaast dient de mogelijkheid om nakomelingen te produceren te worden geverifieerd. Om dit te bewerkstelligen kan eierstokweefsel van een muis dat al dan niet aan FF-OCT is blootgesteld, worden teruggeplaatst bij muizen zonder afweersysteem waarbij beide eierstokken verwijderd zijn. Vervolgens kan worden bestudeerd of eicelrijping optreedt en kunnen rijpe eicellen worden verkregen en bevrucht door middel van IVF. De muizenembryo's kunnen tot slot worden teruggeplaatst in een draagmoedermuis. Indien dit succesvolle resultaten oplevert, kan FF-OCT als non-invasieve methode worden gebruikt om uitzaaiingen in humane eierstokfragmenten op te sporen.

Concluderend kan worden gesteld dat de huidige tumordetectieprocedure onvoldoende informatie lijkt te kunnen geven over de aanwezigheid van borsttumorcellen in de eierstokfragmenten die daadwerkelijk worden teruggeplaatst. NIRF-beeldvorming en FF-OCT zijn veelbelovende alternatieve technieken om uitzaaiingen in eierstokweefsel te detecteren. Aangezien beide methoden in opzet non-invasief zijn, kunnen deze methoden mogelijk gecombineerd worden toegepast om de sensitiviteit en specificiteit te vergroten. Hoewel de studies in dit proefschrift voornamelijk gericht zijn op uitzaaiingen in de eierstok die afkomstig zijn van borstkanker, kan zowel NIRF-beeldvorming als FF-OCT naar verwachting ook worden gebruikt om uitzaaiingen op te sporen die afkomstig zijn van andere typen tumoren. Dit zou betekenen dat in de toekomst ook patiënten in aanmerking kunnen komen voor terugplaatsing van eierstokweefsel die momenteel worden uitgesloten vanwege een te hoog risico op herintroductie van tumorcellen. Dankzij optische beeldvorming zouden dus mogelijk meer patiënten terugplaatsing van eierstokweefsel kunnen ondergaan.