



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Multimodal image-guided interventions using oncological biomarkers

Stammes, M.A.

Citation

Stammes, M. A. (2018, May 22). *Multimodal image-guided interventions using oncological biomarkers*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/62351>

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/1887/62351>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/62351> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Stammes, M.A.

Title: Multimodal image-guided interventions using oncological biomarkers

Issue Date: 2018-05-22

Appendices

Nederlandse Samenvatting

List of Abbreviations

Curriculum Vitae

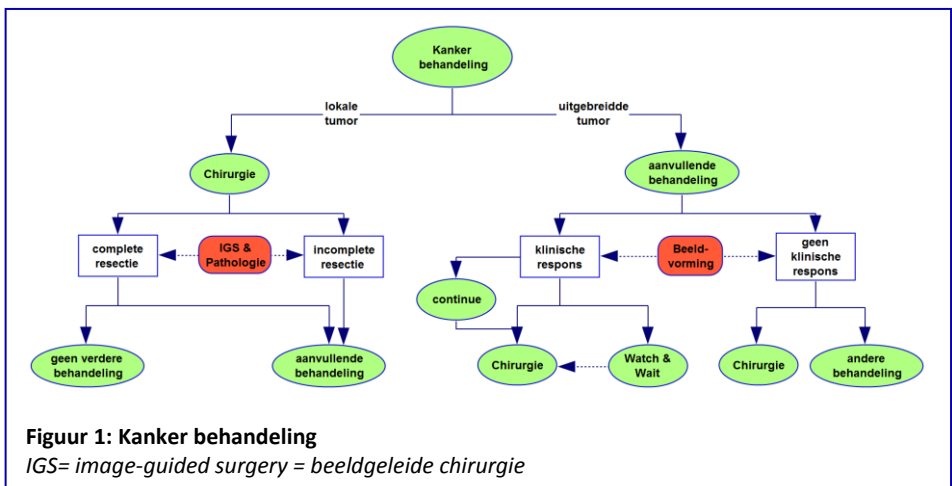
List of Publications & Conference Abstracts

Dankwoord

Marieke A. Stammes

Nederlandse Samenvatting

Op dit moment is kanker één van de belangrijkste doodsoorzaken in de wereld met circa 14 miljoen nieuw gediagnosticeerde gevallen in 2012 en rond de 20 miljoen in 2025. Dit betekent dat het risico dat iemand kanker krijgt nu al op 18.5% ligt en alleen nog maar verder gaat stijgen. Het doel van het onderzoek uitgevoerd in dit proefschrift is dan ook om een bijdrage te leveren aan zowel de diagnostiek als behandeling van kankerpatiënten. De meest gebruikte behandelingen voor kanker zijn: chirurgie, systemische therapie of radiotherapie. Vaak zal er voor een combinatie van deze behandelingen worden gekozen en wanneer mogelijk maakt chirurgie daar deel van uit. Voor alle combinaties geldt dat het doel is om het kankergezwel in zijn geheel te verwijderen. Wanneer chirurgie in eerste instantie niet goed mogelijk is, dan is het soms mogelijk om eerst een andere behandeling te geven om de tumor te verkleinen. Indien dit succesvol blijkt, dan hoopt men in tweede instantie de tumor alsnog operatief te kunnen verwijderen (**Figuur 1**).



Tegenwoordig is één van de speerpunten in de behandeling van kankerpatiënten om deze meer patiënt- en doelgericht te maken. Op deze manier hopen we de nauwkeurigheid om kankercellen te vernietigen te verhogen en om daarnaast meer gezond weefsel te kunnen sparen. Er zijn meerdere manieren om dit aan te pakken en te verbeteren.

Dit proefschrift bestaat uit twee delen, in het eerste gedeelte wordt de mogelijke meerwaarde van beeldgeleide chirurgie besproken en bediscussieerd. Het onderzoek dat in dit gedeelte is uitgevoerd, toont aan dat beeldvorming van grote meerwaarde kan zijn tijdens de operatie. Het slagingspercentage hiervan is echter afhankelijk van de keuze van de beeldvormende modaliteit in combinatie met het target waartegen het contrastmiddel gericht is. In het tweede gedeelte van het proefschrift wordt een stof getest die necrose, onnatuurlijke celdood, aantoonst. In dit gedeelte wordt succesvol aangetoond dat deze stof gebruikt zou kunnen worden als biomarker voor een vroege evaluatie van de behandelrespons tijdens een kankerbehandeling.

Deel I: Beeldgeleide Chirurgie

Voor de start van een behandeling van een kankerpatiënt, met een solide tumor, worden er verschillende vormen van beeldvorming gedaan om een goed overzicht te krijgen van de conditie van de patiënt en voor de stadiëring van de tumor. Tijdens een operatie is het beeld echter veranderd doordat de anatomie van alle weefsels gewijzigd is. Het vaststellen van de rand van de tumor kan dan dus niet meer op basis van de voorafgaande beeldvorming adequaat gedaan worden maar moet gedaan worden door visuele inspectie en palpatie door de chirurg. Complete verwijdering van een tumor wordt dan bepaald op basis van palpabel en visueel afwezig tumorweefsel. De bevestiging of dit juist was wordt bepaald door histologische inspectie van het uitgenomen weefsel door de patholoog, echter de resultaten hiervan zijn ongeveer een week na de operatie bekend met alle consequenties van dien. Het grote voordeel van beeld- of moleculair geleide chirurgie is dat, door de toevoeging van deze nieuwe techniek, de chirurg een directe terugkoppeling krijgt over het weefsel wat hij uitgenomen heeft door een verbetering van het zicht.

Over het algemeen kan ieder element in een tumor dat specifiek geactiveerd, tot expressie gebracht of overgereguleerd wordt, dienen als doelwit voor beeldgeleide chirurgie. Op dit moment zijn een groot aantal van dit soort 'elementen' of biomarkers voor optische beeldvorming in verschillende fases van onderzoek, waarbij veelbelovende resultaten worden verkregen. Deze studies tonen aan dat de standaard chirurgische procedure niet negatief wordt beïnvloed door het gebruik van optische beeldvorming en dat de tumor

zonder vertraging “live” in beeld kan worden gebracht. De twee grootste problemen die gezien worden is het hoge aantal vals-positieve bevindingen en daarmee de overbehandeling van patiënten en de minimale penetratie diepte van optische beeldvorming. Voor de ontwikkeling van nieuwe beeldgeleide technieken zijn doelgerichte contrast middelen noodzakelijk die een hoge weefsel specificiteit hebben met daarbij een hoge tumor-achtergrond ratio voor een meer specifieke en gedetailleerde visualisatie van de tumor (**hoofdstuk 3**). Daarnaast is het zinvol om op zoek te gaan naar alternatieve beeldvormende modaliteiten of combinaties hiervan (**hoofdstuk 2 & 4**)

In **Hoofdstuk 2** worden tien verschillende innovatieve en beschikbare beeldvormende modaliteiten, die tijdens de operatie gebruikt zouden kunnen worden, met elkaar vergeleken vanuit een klinisch oogpunt. De conclusie die in dit hoofdstuk getrokken wordt, is dat geen enkele beeldvormende modaliteit op zichzelf in staat is om al het noodzakelijke weer te geven. Het gebruik van multimodale beeldvorming is vereist om op die manier de voordelen te laten prevaleren boven de nadelen. De betrouwbaarheid en beeldkwaliteit van de meeste van deze modaliteiten kan verbeterd worden door het gebruik van doelgerichte contrastmiddelen. Hierbij lijken specifieke “doelen”, die ruimschoots aanwezig zijn op het celoppervlak van tumorcellen en afwezig zijn bij gezonde cellen, de beste en meest kansrijke kandidaten voor beeldgeleide chirurgie.

In **Hoofdstuk 3** worden twee biomarkers; EphA2 en EphB4 met elkaar vergeleken. Beide worden tot over-expressie gebracht bij de meerderheid van patiënten met een colorectale tumor. Om de verschillen in expressie tussen tumor en nabijgelegen gezond weefsel in beeld te brengen werd een scoringsdiagram ontwikkeld. Dit gaf in één oogopslag weer dat hoewel beide biomarkers tot over expressie werden gebracht, alleen EphB4 een duidelijk verschil toonde in vergelijking met gezond weefsel.

In **Hoofdstuk 4** wordt de meerwaarde van multi-spectrale optoacoustische tomografie (MSOT) aangetoond. MSOT is vergelijkbaar aan optische fluorescente beeldvorming, alleen gebruikt MSOT licht als bron en geluid voor signaal detectie, waardoor de penetratie diepte groter is. Dit hoofdstuk toont de meerwaarde van 3D over 2D beeldvorming aan, onafhankelijk van de techniek die gebruikt wordt. Daarnaast wordt hard gemaakt dat een

combinatie van anatomische en functionele beeldvorming onontbeerlijk is voor het verkrijgen van een compleet overzicht van de tumor voor de operatie.

Deel II: Beeldvorming van Necrose

Celdood is een essentieel proces in het menselijke lichaam om in zijn geheel te kunnen overleven. Tumor celdood is meestal het effect van een kankerbehandeling en hoewel geïnduceerd van buiten het lichaam noodzakelijk om patiënten kanker te laten overleven. In dit gedeelte van het proefschrift doen we de aanname dat een verhoging van de hoeveelheid celdood in een tumor een teken is dat een patiënt reageert op de behandeling. Dit is een aanname, omdat het ook mogelijk is dat door de behandeling de biologische systemen rond een tumor geactiveerd worden en dat de tumor daardoor zelfs sneller gaat groeien. Ook dit proces zal celdood veroorzaken in de kern van de tumor, daar de bloedvaten niet zo snel mee kunnen groeien. Zowel respons op de behandeling als het sneller groeien van de tumor leidt tot celdood echter alleen een respons op de behandeling is een positief teken. De tweede aanname is dat necrose de belangrijkste vorm van celdood is, die plaatsvindt tijdens het behandelproces van kankerpatiënten. Deze aanname doen we omdat necrose geclassificeerd wordt als onnatuurlijk en veroorzaakt door directe onherstelbare schade aan de cel. Echter, volgens de internationale classificaties van celdood, zijn er 13 verschillende vormen van celdood te onderscheiden. Elke vorm heeft zijn eigen karakteristieken. Hoogstwaarschijnlijk vindt er dus een combinatie van verschillende vormen van celdood plaats na een behandeling.

In **Hoofdstuk 5** werd aangetoond dat de twee gecarboxyleerde cyanine kleurstoffen, HQ5 en IRDye800CW, een sterke aantrekkingskracht tot necrose hebben. Het exacte mechanisme waarmee ze binden op moleculair niveau is onduidelijk. We weten dat deze stoffen zich richten op cytoplasmatische eiwitten, die beschikbaar komen nadat de membraan integriteit verbroken is. Hiermee is de aanname uit bovenstaande alinea gerechtvaardigd, aangezien het eindpunt bij vele vormen van celdood het verlies van de membraan integriteit is.

Om deze stoffen in de toekomst klinisch bruikbaar te maken en om de hoeveelheid celdood te kunnen kwantificeren hebben we in **Hoofdstuk 6** één

van de leden van de HQ5 familie, HQ4, gekoppeld met een radioactief label. In dit hoofdstuk hebben we laten zien dat na deze koppeling er nog steeds binding aan necrose plaatsvindt en dat deze binding specifiek is. Hierdoor heeft HQ4 de potentie om gebruikt te gaan worden voor meerdere klinische toepassingen. Eén van de belangrijkste toepassingen is de evaluatie van behandelrespons. In **Hoofdstuk 6** laten we zien dat dit mogelijk is in met chemotherapie behandelde muizen, en in **Hoofdstuk 7**, door muizen te behandelen met radiotherapie.

Daarnaast testen we in **Hoofdstuk 7** ook een andere beeldvormende modaliteit, optoacoustische tomografie, voor de detectie van necrose met behulp van HQ4. In dit hoofdstuk is aangetoond dat HQ4 een multimodaal contrastmiddel is voor de beeldvorming van zowel oppervlakkig als dieper gelegen weefsels. De resultaten uit dit deel van het proefschrift laten zien dat contrastmiddelen gericht tegen necrose de potentie hebben om in de kliniek gebruikt te worden voor zowel diagnostische, prognostische als therapeutische doeleinden.

Toekomst Perspectief

Kort samengevat laten de onderzoeken in dit proefschrift zien dat er meerdere veelbelovende technieken in ontwikkeling zijn, die mogelijk van meerwaarde kunnen zijn bij beeldgeleide chirurgie en behandel evaluatie van kankerpatiënten. Dit proefschrift toont ook aan dat het noodzakelijk is om modaliteiten te combineren, om de behandeling van kankerpatiënten verder te kunnen verbeteren. In dit proefschrift werd gekozen voor een combinatie van beeldvormende technieken en biomarkers. Een andere mogelijkheid is het combineren van diagnostiek en therapie, theranostiek. Theranostiek kan een combinatie zijn van diagnostiek gevolgd door therapie waarbij de diagnostiek gebruikt wordt om te onderzoeken of de therapie aan gaat slaan. Daarnaast kan theranostiek ook therapie gevolgd door diagnostiek zijn om vroege behandel respons vast te leggen. De laatste mogelijkheid is dat diagnostiek en therapie tegelijkertijd worden uitgevoerd. Het doel van theranostiek is dat er gepersonaliseerde behandelingen gegeven worden. De juiste behandeling wordt dan aan de juiste patiënt gegeven. Het maakt de patiëntenzorg efficiënter en tevens (kosten) effectiever. Doordat patiënten minder belast

worden met onnodige bijwerkingen, zorgt dit tevens voor een verbetering van de kwaliteit van leven.

Ik zou willen afsluiten met een citaat van de Chinese filosoof Lao Tzu; *“een reis van duizend kilometer begint met één enkele stap”*. In de context van mijn proefschrift heeft dit voor mij de volgende betekenis: om een hoge variëteit aan kankersoorten te verslaan is iedere stap voorwaarts er één. Met elke stap kunnen we het gedrag van kanker en het complete biologische proces erachter iets verder ontrafelen, met als doel kanker in de toekomst nog beter te kunnen behandelen. Ik hoop dat dit proefschrift bijgedragen heeft met een kleine stap voorwaarts in de juiste richting!

List of Abbreviations

%ID/g	Percentage injected dose per gram
%ID/w	Percentage injected dose corrected for the weight
¹¹¹In-Cl₃	¹¹¹ indium-chloride
¹⁸F	¹⁸ fluor
2DG	2-Deoxyglucose
800CW	IRDye800CW
AI	Amphiphilicity index
5-ALA	5-aminolevulinic acid
ATM	Ataxia telangiectasia mutated
ATP	Adenosine triphosphate
AVF	Annexin V-FITC
BED	Biological effective dose
BF	Bright-field
BLI	Bioluminescent imaging
BSA	Bovine serum albumin
CA	Contrast agent
CBG99	Green click beetle luciferase
CBN	Conjugated bond number
CLI	Cherenkov luminescence imaging
cRGD	c[RGDyK], cyclo (Arginine- Glycine – Aspartic acid-Tyrosine- Lysine)
CT	Computed tomography
CTX	Cyclophosphamide
DAMP	Damage-associated molecular pattern
DNA	Deoxyribonucleic acid
DTPA	Diethylene triamine pentaacetic acid
EGF	Epidermal growth factor
EphA2	Erythropoietin-producing hepatocellular carcinoma receptor A2
EphB4	Erythropoietin-producing hepatocellular carcinoma receptor B4
EPR	Enhanced permeability and retention
ERC	European research council
ETO	Etoposide
FACS	Fluorescence-activated cell sorting
FDA	Food and Drug Administration
FDG	Fluorodeoxyglucose
FFPE	Formalin-fixed paraffin-embedded
FGD	Fluorescence-guided dissection
FGS	Fluorescence-guided surgery
FITC	Fluorescein isothiocyanate
FLI	Fluorescence imaging
FOV	Field of view
FP7	Seventh framework programme

FWHM	Full width half maximum
GA	Gambogic acid
GFP	Green fluorescent protein
GLUT	Glucose receptor-1
GMP	Good manufacturing practices
HIPEC	Hyperthermic intra-peritoneal chemotherapy
H&E	Hematoxylin and Eosin
H&N	Head and neck
H2020	Horizon 2020, funding programme
ICD	Immunogenic cell death
ICG	Indocyanine green
iCT	Intraoperative computed tomography
IGS	Image-guided surgery
IGOS	Image-guided oncologic surgery
IHC	immunohistochemistry
iMRI	Intraoperative magnetic resonance imaging
ioUS	Intraoperative ultrasound
logP	Log octanol-water partition coefficient, Lipophilicity
MALDI	Matrix assisted laser desorption/ionisation
MIP	Maximum intensity projection
MR	Magnetic resonance
MRI	Magnetic resonance imaging
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
MSCA	Marie Skłodowska-Curie actions
MSOT	Multispectral optoacoustic tomography
MTS	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfofenyl)-2H-tetrazolium)
Mw	Molecular weight
N/T	Normal to tumor
NACA	Necrosis avid contrast agent
NCI	National Cancer Institute
NHS	N-Hydroxysuccinimide
NIH	National Institutes of Health
NIR (F)	Near- infrared fluorescence
NL	Not labeled
OA	Optoacoustic imaging
OCT (1)	Optical coherence tomography
OCT (2)	Optimum cutting temperature
OR	Operating room
OSEM	Ordered subset expectation maximization
PA	Photoacoustic
PBS	Phosphate-buffered saline
PCR	Polymerase chain reaction

PDAC	Pancreatic ductal adenocarcinoma
PDT (1)	Photodynamic therapy
PDT (2)	Population doubling time
PEG	Polyethylene glycol
PET	Positron emission tomography
PI	Propidium iodide
POSEM	Pixel-based ordered subset expectation maximization
PS	Phosphatidylserine
qPCR	Realtime PCR
QSAR	Quantitative Structure Activity Relations
R0 resection	Radical resection
R1 resection	Irradical resection
RA	Radioactivity
RECIST	Response Evaluation Criteria in Solid Tumors
REIMS	Rapid evaporative ionization mass spectrometry
REMARK	REporting recommendations for tumor MARKer prognostic studies
RIP-1	Receptor-Interacting Protein 1
ROI	Region of interest
ROS	Reactive oxygen species
RS	Raman spectroscopy
RT	Room temperature
RT	Radiation therapy
S/B	Signal-to-background
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
SEM	Standard error of the mean
SGC	Small gamma camera
SLN	Sentinel lymph node
SNR	Signal to noise ratio
SOP	Standard operating protocol
SPECT	Single-photon emission computed tomography
Sta	Staurosporine
SUV	Standard uptake value
TBR	Tumor to background ratio
TCO	Trans-Cyclooctene
TMA	Tissue microarray
TNM	Tumor node metastasis classification of malignant tumors
TNT	Tumor necrosis targeting
TOF	Time of flight
TUNEL	TdT-mediated dUTP Nick-end labelling
US	Ultrasound
Z	Electric charge
λ_{abs}	Absorbance wavelength
λ_{em}	Emission wavelength