

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/19081> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Snoeks, Thomas Jan Adriaan

**Title:** Imaging in pre-clinical cancer research : applied to bone metastases

**Date:** 2012-06-13

# 8

## Miscellaneous

Nederlandse Samenvatting  
List of Abbreviations  
Dankwoord  
Curriculum Vitae  
List of Publications



## Nederlandse Samenvatting

Dit proefschrift beschrijft een aantal methodes om structurele veranderingen in het skelet te kwantificeren en het verloop van deze veranderingen door de tijd te volgen. Daarnaast worden er methodes beschreven die gebruikt kunnen worden voor de kwalitatieve beoordeling van botdikte en structurele afwijkingen van het bot. Ook wordt er een *in vitro* methode beschreven waarmee de eventuele effecten van stoffen op nieuw gevormde bloedvaten kan worden gemeten. De relevantie van een aantal van deze methodes wordt aangetoond door deze met succes te gebruiken in een preklinische studie naar de effecten van verschillende combinatiebehandelingen van botmetastasen van borstkanker. Een van de hoofdconclusies van deze studie is dat de stof ENMD-1198 een veelbelovende stof is voor de behandelingen van dit soort metastasen.

Sommige soorten kanker, met name die van de borst en de prostaat, zaaien bij voorkeur uit naar botweefsel. In het bot leiden deze zogenaamde botmetastasen tot een zeer specifiek ziektebeeld dat wordt gekenmerkt door ongecontroleerde botafbraak of juist overvloedige botaanmaak. De botmetastasen van borstkanker die in dit proefschrift aan de orde komen geven over het algemeen metastasen die de botafbraak sterk stimuleren.

De verhoogde botafbraak rondom botmetastasen komt doordat de tumorcellen botafbraak-stimulerende signaalmoleculen produceren en uitscheiden. Uit het afgebroken bot zelf komen vervolgens ook aantal stoffen vrij. Sommige van deze vrijgekomen stoffen stimuleren op hun beurt de tumorcellen tot groeien en tot verdere productie van botafbraak stimulerende moleculen. Op deze manier ontstaat er lokaal rond de botmetastase een vicieuze cirkel van signalen gericht op tumorgroei en botafbraak.

Een behandeling van botmetastasen is idealiter gericht tegen botafbraak, tegen de groei en overleving van tumorcellen, tegen de uitgroei van bestaande en vorming van nieuwe bloedvaten en vóór de activering van het immuunsysteem in een specifieke respons tegen de tumor. Omdat het hier gaat om zeer uiteenlopende processen is een behandeling met één stof als “magic bullet” waarschijnlijk niet haalbaar en is het noodzakelijk op zoek te gaan naar een combinatie van stoffen die gezamenlijk de gewenste behandeling vormen.

De vicieuze cirkel van botafbraak kan worden doorbroken door het geven van bisfosfonaten, een klasse moleculen die de botafbraak stil leggen. Daarnaast kan door, onder andere, het blokkeren van de vasculaire endotheliale groei factor kan ook de vorming van nieuwe bloedvaten worden afgeremd. Dit effect kan nog eens worden versterkt door het voorkomen dat endotheliale voorlopercellen, een celtype dat betrokken is bij het herstel van bestaande en vorming van nieuwe bloedvaten, door de tumor worden aangetrokken. Het immuunsysteem kan onder andere worden geactiveerd door bijvoorbeeld de immuunrespons onderdrukkende regulatorische T-cellen te inactiveren. Om het resultaat van een dergelijke combinatiebehandeling te kunnen volgen tijdens een preklinische studie zijn er meetmethodes nodig waarmee

het verloop van verschillende processen, zoals tumorgroei, angiogenese en botafbraak, door de tijd en tegelijkertijd gevolgd kunnen worden.

Moleculaire beeldvormende technieken zijn geschikt voor het verrichten van kwantitatieve en kwalitatieve bepalingen van relevante factoren in preklinische dierstudies. Deze technieken zijn veelal niet invasief. Dat betekent dat metingen meerdere momenten tijdens het verloop van een experiment kunnen worden uitgevoerd worden op een levend dier zonder dat het dier daarbij wordt opengemaakt of gedood. Daardoor is het mogelijk om met deze technieken structurele veranderingen in het skelet en andere ziekte gerelateerde processen zoals bloedvatgroei en tumorgroei te kwantificeren en het verloop daarvan door de tijd, in één en hetzelfde dier te volgen.

Röntgenfoto's en opnames gemaakt met optische beeldvormende technieken, zoals fluorescentie- en bioluminescentieopnames, zijn in principe tweedimensionaal. Tegenwoordig is het ook mogelijk om met deze technieken driedimensionale opnames te maken. Een driedimensionale Röntgenfoto is beter bekend als *computed tomografie* (CT). Driedimensionale technieken hebben een aantal voordelen ten opzichte van tweedimensionale technieken, zo geven driedimensionale technieken een realistischer weergave van de werkelijkheid en betere mogelijkheden tot kwantificering. Het is echter lastig en tijdrovend om driedimensionale datasets te analyseren. Het is bijvoorbeeld moeilijk om in een driedimensionale dataset een gestandaardiseerd deelvolume te selecteren.

Hoofdstuk 2 van dit proefschrift beschrijft een methode om in CT scans deelvolumes te selecteren en weergaves van doorsneden van botten te genereren. De methode maakt gebruik van een nieuwe, genormaliseerde, ruimte die gegenereerd is uit de scan data door het bot van interesse recht te maken en het zo te roteren dat het bot parallel loopt aan de z-as. Deze nieuwe ruimte wordt gegenereerd op basis van een handmatig gedefinieerde middellijn van het bot. Vervolgens wordt de nieuwe ruimte gecreëerd die geheel bestaat uit doorsneden onder een hoek van  $90^\circ$  ten opzichte van de middellijn. Deze nieuwe ruimte kan dan worden gebruikt voor het genereren van weergaven van genormaliseerde doorsneden van het betreffende bot of voor het definiëren van deelvolumes van een bot. Eventuele volumemetingen worden uitgevoerd in de originele scandataset, nadat het geselecteerde deelvolume uit de genormaliseerde data is terug geprojecteerd in de originele scandataset, dit om meetfouten als gevolg van de databewerking te voorkomen.

Een van de problemen met longitudinale studies, waarbij een dier op verschillende momenten tijdens een studie gescand wordt, is dat iedere scan gemaakt wordt terwijl het dier in een andere houding in de scanner ligt. Hoofdstuk 3 beschrijft een geautomatiseerde methode om CT data uit longitudinale studies zowel kwalitatief als kwantitatief te analyseren. Deze methode maakt onder andere gebruik van een eerder gepubliceerde methode om te compenseren voor variaties in houding waarin een het dier op verschillende momenten is gescand. Deze variaties worden gecompenseerd door een muiscatlas over het skelet van het dier in de scandataset te passen. Vervolgens wordt het skelet in de scan op basis van de atlas opgedeeld in deelvolumes en in een genormaliseerde houding gebracht. Hoofdstuk 3 beschrijft hoe binnen

deze deelvolumes een vooraf bepaald botdeel automatisch kan worden geselecteerd en hoe het volume van dit botdeel vervolgens automatisch gemeten kan worden. De meetresultaten van deze geautomatiseerde methode wijken niet significant af van meetresultaten die handmatig zijn verkregen volgens de methode uit hoofdstuk 2.

In hoofdstuk 3 wordt er ook, net als in hoofdstuk 2 gebruik gemaakt van een middellijn. In dit geval wordt de middellijn niet handmatig per scan bepaald, maar wordt een middellijn vanuit de atlas op de scandataset geprojecteerd. In de orthogonale doorsneden wordt de dikte van het corticale bot gemeten. De gemeten botdikte wordt als kleur, rood voor dik en blauw voor dun bot, op een driedimensionale reconstructie van het bot weergegeven. Deze methode om de corticale botdikte overzichtelijk weer te geven is nuttig om de locatie van osteolytische en osteoslerotische gebieden in het bot snel en eenvoudig te identificeren. Op die manier kunnen deze weergaven de onderzoeker helpen bij het vinden van gebieden die interessant zijn om nader te bestuderen met, bijvoorbeeld, histologische technieken.

CT kan worden gebruikt bij het visualiseren en kwantificeren van structurele veranderingen die als gevolg van een ziekte of een behandeling optreden. Optische beeldvormende technieken, gebaseerd op fluorescentie en bioluminescentie, geven juist meer functionele dan structurele informatie. Deze technieken kunnen onder andere worden gebruikt voor het volgen van tumorgroei of het visualiseren van moleculaire interacties en enzymatische activiteit. Om een compleet beeld te krijgen van alle structurele en functionele veranderingen tijdens een experiment is het dus nodig om de data van deze verschillende technieken met elkaar te combineren.

Naast CT zijn er een aantal beeldvormende technieken om driedimensionale data te verkrijgen. Zo zijn er bijvoorbeeld driedimensionale bioluminescentie- en fluorescentiecameras, PET, SPECT en MRI. Iedere techniek heeft zijn eigen specifieke sterke en zwakke punten. De combinatie van deze technieken biedt unieke mogelijkheden en toepassingen binnen het biologische en medisch onderzoek, maar de gecombineerde analyse van deze zeer uiteenlopende soorten data gaat gepaard met een aantal grote uitdagingen. Ieder apparaat dat wordt gebruikt om de datasets te verkrijgen komt met specifieke eisen omtrent anesthesie en positionering van het dier. Dit leidt ertoe dat het moeilijk is om het dier iedere keer in exact dezelfde houding te scannen. Dit wordt helemaal onuitvoerbaar als een dier op meerdere momenten tijdens een proef gescand moet worden. Ook wanneer er speciaal ontwikkelde houders gebruikt worden waar het dier in kan worden gelegd blijken er toch nog verschillen in houding aan te zijn.

De hoofdstukken 2 en 3 van dit proefschrift beschrijven methodes om te compenseren voor de variatie in houding in CT datasets. In hoofdstuk 4 wordt meer ingegaan op een geïntegreerde verwerking van datasets die zijn verkregen met verschillende technieken. Het skelet wordt telkens gebruikt als referentiekader bij het compenseren van variaties in houding. Als gevolg is de verwerking van PET-, SPECT-, MRI-, bioluminescentie- en fluorescentiedata nu nog afhankelijk van een gelijktijdig verkregen CT dataset. Het verwerken van MRI data is in theorie mogelijk zonder een CT scan omdat deze datasets naast zacht weefsel contrast ook specifieke informatie

over het skelet bevatten.

Naast de hierboven beschreven technieken om het effect van behandelingen op verschillende processen *in vivo* te beoordelen is het ook belangrijk om de effectiviteit van stoffen vooraf *in vitro* te testen. Om te evalueren wat de effecten zijn van stoffen op de uitgroei van bloedvaten zijn er tal van *in vitro* tests beschikbaar. De meeste van deze tests zijn gebaseerd op het meten van de groeisnelheid van endotheel cellen, bijvoorbeeld HUVECs. Naast de groeisnelheid kan er als maat van angiogenese ook gekeken worden naar het vermogen van deze cellen om in een driedimensionale matrix buisachtige structuren te vormen. Angiogenese is echter een complex proces waar vele celtypes bij betrokken zijn. Bovendien kunnen stoffen niet alleen de uitgroei van vaten beïnvloeden, maar ook effecten hebben op nieuw gevormde vaten.

In hoofdstuk 5 wordt een *in vitro* test beschreven die als doel heeft het specifieke effect van stoffen op bestaande vaten te meten. Deze test is een uitbreiding op een eerder beschreven test om het effect van stoffen op de uitgroei van bloedvaten te meten. Beide tests zijn uniek omdat er gebruik wordt gemaakt van *ex vivo* groeiende embryonale botjes. Deze botjes bevatten alle celtypes bevatten die betrokken zijn bij bloedvatgroei. De vaten die uit deze botjes groeien zijn goed te vergelijken met het soort bloedvaten dat wordt aangetroffen in tumoren omdat in beide gevallen ondersteunende cellen en structuren, zoals bijvoorbeeld pericyten en glad spierweefsel, ontbreken. De test beschreven in hoofdstuk 5 is de eerste test om effecten van stoffen op bestaande vaten te meten in een systeem waarin diverse celtypes aanwezig zijn.

Zowel de *in vitro* test voor het meten van effecten van stoffen op bloedvatvorming en bestaande vaten als de CT analyse methodes zijn gebruikt in hoofdstuk 6 voor de evaluatie van diverse combinatiebehandelingen van osteolytische botmetastasen van borstkanker. De combinatiebehandeling is zo samengesteld dat alle relevante processen voor de groei van botmetastasen in theorie worden geremd. Deze processen zijn tumorgroei, de uitgroei en vorming van nieuwe bloedvaten en botafbraak. De combinatiebehandeling bestond uit ENMD-1198 (een 2-methoxyestraadiol (2ME2)-achtige stof), lage dosis cyclofosfamide (CTX), en het bisfosfonaat risedronaat (BP).

2ME2 is een stof die interfereert met de microtubuli van het cytoskelet van cellen. Op die manier werkt 2ME2 antiproliferatief op snel delende cellen zoals kankercellen en geactiveerde endotheelcellen tijdens angiogenese. Bovendien maakt 2ME2 cellen gevoeliger voor geprogrammeerde celdood (apoptose). Daarnaast is het aangetoond dat 2ME2 *in vivo* de groei van de borstkanker cellijnen 4T1 en MDA-MB-231 kan remmen. 2ME2 beschermt het bot ook tegen botafbraak. Dit laatste komt doordat 2ME2 de differentiatie van nieuwe osteoclasten remt en apoptose veroorzaakt in bestaande osteoclasten. Het beschermende effect van 2ME2 op het bot is ook aangetoond in diermodellen voor postmenopauzale osteoporose en postmenopauzale reumatoïde artritis. ENMD-1198 is een licht gewijzigde vorm van 2ME2 die stabiel is en een sterkere cytotoxische werking heeft dan 2ME2. De mogelijke effecten van ENMD-1198 op bot zijn echter nooit onderzocht.

Lage dosis CTX heeft, in tegenstelling tot de traditionele maximum dosis, geen direct effect op de tumorcellen. Lage dosis CTX remt de uitgroei en vorming van nieuwe

bloedvaten doordat het cytotoxisch is voor geactiveerd endotheel en circulerende endotheliale voorlopercellen. Daarnaast is lage dosis CTX cytotoxisch voor regulatoire T-cellen. Dit is een celtype dat de immuunrespons kan remmen. Door deze cellen weg te halen wordt het dus makkelijker om een tumor specifieke immuunrespons te veroorzaken.

Om de vicieuze cirkel van botafbraak te doorbreken werd in hoofdstuk 6 gebruik gemaakt van het BP risedronaat. BPs worden in de kliniek gebruikt voor de behandeling van bijvoorbeeld osteoporose. BPs binden aan het skelet en remmen vervolgens de osteoclasten.

In de studie beschreven in hoofdstuk 6 werd in een preklinisch model gebruik gemaakt van ENMD-1198 bij de behandeling van botmetastasen. In dit model worden botten geïnoculeerd met de bot specifieke osteolytische borstkanker cellijn MDA-BO2. De MDA-BO2 cellijn is een subkloon van de MDA-MD-231 cellijn, een veel gebruikt model voor borstkanker. In het hoofdstuk wordt aangetoond dat ENMD-1198 een gunstig effect heeft op de tumorgroei, bloedvatvorming en botafbraak.

Naast de effecten van ENMD-1198 op de groei van osteolytische botmetastasen werd er ook gekeken naar het effect van diverse combinatiebehandelingen met ENMD-1198, CTX en BP. De resultaten beschreven in hoofdstuk 6 laten zien dat de combinatiebehandeling van ENMD-1198 en lage dosis CTX niet veel effectiever is dan een behandeling met ENMD-1198 alleen. Daar dient bij te worden opgemerkt dat deze experimenten zijn uitgevoerd in een diermodel zonder immuunsysteem terwijl het werkingsmechanisme van lage dosis CTX wel deels via het immuunsysteem loopt. Het toevoegen van BP behandeling aan de combinatie leidde niet tot een significante verbetering van het behandelingsresultaat. Waarschijnlijk komt dit doordat de behandeling met ENMD-1198 al een sterk effect op het bot had.

Hoofdstuk 6 is naast de biologische betekenis een voorbeeld van hoe de technieken die staan beschreven in de hoofdstukken 2 en 5 kunnen worden gebruikt binnen het kankeronderzoek.





## List of Abbreviations

2D	Two Dimensional
2ME2	2-Methoxyestradiol
3D	Three Dimensional
4-HC	Hydroxyperoxycyclophosphamide
$\mu$ CT	Micro-Computed Tomography
ABPs	Activity-Based Probes
APR	Articulated Planar Reformation
BLI	Bioluminescence Imaging
BMP	Bone Morphogenic Protein
BP	Bisphosphonate
CA4P	Combretastatin Analog A4 Phosphate
CEPs	Circulating Endothelial Progenitor Cells
CT	Computed Tomography
CTX	Cyclophosphamide
CV	Coefficient of Variation
EPCs	Endothelial Progenitor Cells
FCS	Fetal Calf Serum
FGF	Fibroblast Growth Factor
FLI	Fluorescence Imaging
FMT	Fluorescence Molecular Tomography
HE	Hematoxylin Eosin
HIF-1 $\alpha$	Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$
HUVECs	Human Umbilical Vein Endothelial Cells
IGF	Insulin-Like Growth Factor
M-CSF	Macrophage Colony-Stimulating Factor

---

MMP	Matrix Metalloproteinase
MPR	Multi-Planar Reformation
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MTA	Microtubule Targeting Agent
NIR	Near Infra-Red
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PET	Positron Emission Tomography
PTHrP	Parathyroid Hormone-Related Protein
RANK	Receptor Activator for Nuclear Factor- $\kappa$ B
RANKL	Receptor Activator for Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand
ROI	Region of Interest
SEER	Surveillance Epidemiology and End Results
SEM	Standard Error of the Mean
SMA	Small Molecule Agents
SNR	Signal to Noise Ratio
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography
STAT3	Signal Transducer and Activator of Transcription 3
T <sub>reg</sub>	Regulatory T-Cells
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor- $\beta$
TSP-1	Thrombospondin-1
VDA	Vascular Disruptive Agent
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VOI	Volume of Interest

## Dankwoord

Een proefschrift schrijven doe je niet alleen. Dit is te onder andere te zien aan het aantal auteurs en vernoemingen in de *acknowledgements* per hoofdstuk. Maar, de conclusie dat de mensen die op deze plaatsen genoemd worden de enige zijn die een waardevolle contributie aan mijn promotie hebben geleverd zou te kort door de bocht zijn. Daarom wil ik hier van de gelegenheid gebruik maken om een aantal mensen hier alsnog te bedanken. Het gevaar van dit soort lijstjes is natuurlijk dat je niet iedereen kan noemen. Ik hoop dat zij die vergeten zijn mij dit niet kwalijk nemen.

Allereerst ben ik mijn promotores en copromotores dankbaar voor de mogelijkheid om dit promotie onderzoek uit te voeren en de altijd inspirerende begeleiding. Daarnaast wil ik iedereen die op het lab rondloopt bedanken voor hun gezelligheid en constante bereidwilligheid een helpende hand te bieden. In het bijzonder wil ik daarbij noemen: Chris voor alle onmogelijke bestellingen, Hetty voor het bijbrengen van duizend-en-één laboratoriumvaardigheden, Henny voor de vele botjes en hilarische momenten als alles mis lijkt te gaan, Ivo voor alle zuurstof die ik op het LGP 's nachts per ongeluk uit de fles heb laten lopen, Laura for her enthusiasm, smile and great scientific advice, Isabel voor het (bijna) altijd bereid zijn om in de avonden en weekeinden door te werken en de uitstekende pizza-keuze. En als laatste Stijn en Pieter, de afgelopen tijd vormden we een perfect team en de komende tijd gaan we nog veel meer mooie dingen doen in PDT-land.

Naast het harde werken is het ook van belang om voldoende afleiding te hebben. Gelukkig kon ik daarbij altijd vertrouwen op mijn kamergenoten van C4-67. Zo maar een moment op de kamer: Antoon dweilt zijn derde kop koffie van de dag op, terwijl ik probeer te voorkomen dat Linda de verwarming omhoog draait. Datzelfde moment is Marjolein bezig om de laatste feitjes van een eerder gevoerde discussie op te zoeken en roept Jitske dat we al te laat zijn voor de stresscommissie. Ondertussen is Esther aan de telefoon met een van haar patiënten en voeren Andrea en Maria een uitvoerige discussie (of is het ruzie?) over de lijn van hun nieuwe artikel. Na een vermoeiende dag kon ik dan 's avonds rustig aanschuiven bij Patrick in het restaurant om bij te komen, de week door te nemen en snode diplomatieke plannen te smeden.

Ook buiten het LUMC moet ik een aantal mensen speciaal bedanken. Duarte, thanks for all the nice movies, dinners, museum visits and your support over the last years. Richard, we moeten snel weer een tripje maken naar Keulen, Berlijn of München. Janneke en Evelien bedankt voor alle mooie momenten in zee en in Friesland. Valerius en BSO, dank voor alle muzikale momenten. Sebby en Sebas, bedankt voor het lekkere eten en drinken uit alle windstreken (met name Zuid Afrika). Debbie en Caroline, tijdens mijn studie stonden jullie als huisgenootjes altijd aan mijn zijde, nu doen jullie dat als paranimfen en in de toekomst doen jullie dat hopelijk nog steeds met een advocaatje in Huize Avondrood.

Als laatste wil ik mijn familie bedanken voor alle steun en vertrouwen. Papa, mama, André, Edwin, Joke, Renske, Lizan en Veerle, zonder jullie had ik het nooit zo ver kunnen brengen. Het is klaar, laten we snel een hapje gaan eten.



## Curriculum Vitae

Thomas Jan Adriaan Snoeks is geboren op 19 februari 1981 te Naarden. Hij heeft zijn middelbare schooltijd doorgebracht op het Willem de Zwijger College te Bussum alwaar hij in 1999 zijn VWO diploma behaalde.

Najaar 1999 begon hij aan zijn studie Biomedische Wetenschappen aan de Universiteit Leiden. Tijdens zijn studie heeft hij drie onderzoeksstages verricht. De eerste stage was aan de afdeling Parasitologie van het Leids Universitair Medisch Centrum onder leiding van Dr. A.M. Polderman, de tweede stage was aan de afdeling Endocrinologie en Stofwisselingsziekten van het LUMC onder leiding van Prof. Dr. C.W.G.M. Löwik en de derde stage bij Regeneron Pharmaceuticals (Tarrytown NY, Verenigde Staten) onder leiding van Dr. A.N. Economides.

De Bachelor Biomedische Wetenschappen werd gevolgd door een Master Biomedische Wetenschappen met als specialisatie Science Based Business. Tijdens deze master heeft hij extra keuzevakken gevolgd die oriënteren op het ondernemerschap in de technologische sector. De master Biomedische Wetenschappen werd eind 2006, begin 2007 afgesloten met een afstudeerstage bij TI Pharma (Leiden) waar hij heeft gewerkt aan opzetten van de primaire werkprocessen tijdens de opstartfase van het instituut. Tijdens zijn studie is hij altijd enthousiast als violist betrokken geweest bij het Leids Studenten Koor en Orkest Collegium Musicum.

Na zijn afstuderen begon hij voorjaar 2007 aan zijn promotieonderzoek aan de afdeling Endocrinologie en Stofwisselingsziekten van het LUMC onder leiding van Prof. Dr. C.W.G.M. Löwik. Dat onderzoek was gericht op toepassingen van nieuwe beeldanalyse methodes binnen het onderzoek naar nieuwe behandelingen van botmetastasen van borstkanker. Dit onderzoek heeft geleid tot het huidige proefschrift. Inmiddels is Thomas als postdoc werkzaam in het LUMC waar hij onderzoek doet naar photodynamische therapie in combinatie met tumor specifieke nanodeeltjes.



## List of Publications

**CT-based handling and analysis of pre-clinical multi-modality imaging data of bone metastases.**

Snoeks TJA, Baiker M, Kaijzel EL, Lelieveldt BPF, Löwik CWGM.  
*IBMS BoneKey*, in press.

**Dual-wavelength imaging of tumor progression by activatable and targeting near-infrared fluorescent probes in a bioluminescent breast cancer model.**

Xie BW, Mol IM, Keereweer S, Van Beek ER, Que I, Snoeks TJA, Chan B, Kaijzel EL, Löwik CWGM.  
*Plos One*. 2012 Feb;7(2):e31875.

**Bioluminescence imaging of bone metastasis in rodents.**

Snoeks TJA, van Beek E, Que I, Kaijzel EL, Löwik CWGM.  
*Methods Mol Biol*. 2012;816:507-15.

**Normalized volume of interest selection and measurement of bone volume in MicroCT scans.**

Snoeks TJA, Kaijzel EL, Que I, Mol IM, Löwik CWGM, Dijkstra J.  
*Bone*. 2011 Dec;49(6):1264-9.

**Automated bone volume and thickness measurements in small animal whole-body micro-CT data.**

Baiker M and Snoeks TJA, Kaijzel EL, Que I, Dijkstra J, Lelieveldt BPF, Löwik CWGM.  
*Mol Imaging Biol*. 2011 Oct 13.

**Pre-clinical optical imaging and MRI for drug development in alzheimer's disease.**

Rotman M, Snoeks TJA, Van der Weerd L.  
*Drug Disc Today*. Summer 2011;8(2-4):e117-25.

**Detection of oral squamous cell carcinoma and cervical lymph node metastasis using activatable near-infrared fluorescence agents.**

Keereweer S, Mieog JSD, Mol IM, Van Driel PBAA, Snoeks TJA, Baatenburg de Jong RJ, Vahrmeijer AL, Kerrebijn JDF, Löwik CWGM.  
*Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011 Jun;137(6):609-15.



**Optical image-guided surgery – where do we stand?**

Keereweer S, Kerrebijn JDF, van Driel PBAA, Xie B, Kaijzel EL, Snoeks TJA, Que I, Hutteman M, van der Vorst JR, Mieog JSD, Vahrmeijer AL, van de Velde CJH, Baatenburg de Jong RJ, Löwik CWGM.

*Mol Imaging Biol.* 2011 Apr;13(2):199-207.

**2-methoxyestradiol analogue ENMD-1198 reduces breast cancer-induced osteolysis and tumor burden both *in vitro* and *in vivo*.**

Snoeks TJA, Mol IM, Que I, Kaijzel EL, Löwik CWGM.

*Mol Cancer Ther.* 2011 May;10(5):874-82.

**Optical advances in skeletal imaging applied to bone metastases.**

Snoeks TJA, Khmelinskii A, Lelieveldt BPF, Kaijzel EL, Löwik CWGM.

*Bone.* 2011 Jan;48(1):106-14.

**Chapter 12 “In Vivo” Molecular Imaging.**

Kaijzel EL, Snoeks TJA, Que I, Baiker M, Kok P, Lelieveldt BPF, Löwik CWGM.

*Chemiluminescence and Bioluminescence, The Royal Society of Chemistry 2010, page 425-42.*

**‘*In vivo*’ optical approaches to angiogenesis imaging.**

Snoeks TJA, Löwik CWGM, Kaijzel EL.

*Angiogenesis.* 2010 Jun;13(2):135-47.

**An *in vitro* model that can distinguish between effects on angiogenesis and on established vasculature: actions of TNP-470, marimastat and the tubulin-binding agent Ang-510.**

van Wijngaarden J and Snoeks TJA, van Beek E, Bloys H, Kaijzel EL, van Hinsbergh VWM, Löwik CWGM.

*Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Jan 8;391(2):1161-5.

**Multimodal imaging and treatment of bone metastasis.**

Kaijzel EL, Snoeks TJA, Buijs JT, van der Pluijm G, Löwik CWGM.

*Clin Exp Metastasis.* 2009;26(4):371-9.