

Hoofdstuk 1. Introductie

Tumoren in het hoofd-halsgebied, de slokdarm en de longen hebben meerdere overeenkomsten en liggen relatief dicht bij elkaar in het lichaam. Het zijn relatief veelvoorkomende tumoren, met name longtumoren en in mindere mate hoofd-hals-, en slokdarmtumoren. Risicofactoren voor hun ontwikkeling zijn onder andere roken en alcoholgebruik.

In het algemeen geldt dat patiënten met tumoren die in een vroeger stadium van ontwikkeling ontdekt worden een betere overlevingskans hebben dan wanneer de tumor later wordt ontdekt. Dit benadrukt de nood voor een betrouwbare methode om tumoren in een vroeg stadium op te sporen. Gelukkig lenen hoofd-hals-, slokdarm- en longtumoren zich in principe goed voor een bevolkingsonderzoek.

Een nieuwe ontwikkeling in kankerscreening richt zich op het aantonen van ‘field cancerization’, ook wel veldeffect genoemd. Het veldeffect wordt beschreven als een weefselgebied dat er nog normaal uitziet, maar waarin er wel een verhoogde kans is dat zich een tumor ontwikkelt. Voor hoofd-hals-, slokdarm- en longtumoren wordt aangenomen dat het veldeffect zich ook in de mondholte bevindt.

De aanwezigheid van het veldeffect is mogelijk aan te tonen met optische technieken. Bij zulke technieken wordt de interactie tussen licht en (menselijk) weefsel gemeten. Licht bevat energie die in staat is een interactie aan te gaan met weefsel zoals cellen, weefsel en organen. Deze interactie wordt bepaald door de optische eigenschappen van weefsel: absorptie en verstrooiing. Reflectiespectroscopie is een techniek die deze optische eigenschappen kan detecteren en kwantificeren. In dit proefschrift wordt er gebruik gemaakt van single-fiber reflectiespectroscopie en multidiameter single-fiber reflectiespectroscopie.

Hoofdstuk 2. Multipale primaire tumoren

Het doel van **Hoofdstuk 2** was om een beter begrip te krijgen van de incidentie, overleving en risicofactoren van multipale primaire tumoren (MPT) (i.e., patiënten die niet één, maar meerdere tumoren ontwikkelen) bij patiënten met hoofd-halskanker. De term tweede primaire tumor (SPT) wordt vaak gebruikt om de eerste ‘multipale primaire tumor’ aan te duiden. De meest voorkomende locaties voor zulke tumoren werden geanalyseerd: het hoofd-halsgebied, de longen en de slokdarm.

Hoofdstuk 2a richt zich op de incidentie en overlevingskans. Data over 1372 patiënten met hoofd-halskanker en hun tumoren werd verzameld vanuit het Integraal Kankercentrum

Nederland en de patiëntendossiers. Hierdoor was er sprake van hoogkwalitatieve, dubbel gecontroleerde data. Elf procent van de onderzochte patiënten bleek meer dan één tumor te ontwikkelen. Patiënten waarbij de 2^e (of 3^e of 4^e) tumor zich ontwikkelde in de longen of slokdarm, hadden een slechtere overlevingskans dan wanneer deze zich ontwikkelde in het hoofd-halsgebied (5-jaarsoverleving 29%, 14%, en 67%, respectievelijk). De overlevingskans van patiënten met vervolgtumoren die zich ontwikkelden in het hoofd-halsgebied hadden een betere overlevingskans wanneer deze tumor zich na enkele maanden ontwikkelde, dan wanneer deze zich snel na de eerste tumor ontwikkelde (5-jaarsoverleving 85% vs 25%).

Hoofdstuk 2b richt zich op de risicofactoren voor de ontwikkeling van de tweede primaire tumor (SPT). Voor deze studie werd data van 1581 patiënten gebruikt. Er werd een specifieke analyse gebruikt die rekening hield met ‘concurrerende gebeurtenissen’ voor het ontstaan van een tweede primaire tumor (e.g., na het overlijden van een patiënt kan er zich geen nieuwe tumor ontwikkelen). Van alle patiënten ontwikkelde er ruim 15% een SPT. Analyse liet zien dat roken en alcoholgebruik, comorbiditeit en de sublocatie ‘mondholte’ van de eerste primaire tumor risicofactoren waren voor de ontwikkeling van een SPT. De mate waarin het model het ontstaan van SPTs kon voorspellen werd geduïd al 0.65. Dit is lager dan we hadden gehoopt, maar hoger dan ‘het opgooien van een munt’. Deze resultaten laten zien dat er potentie is om hoofd-halskankerpatiënten te identificeren die een verhoogd risico hebben op de ontwikkeling van een SPT.

Hoofdstuk 3. Elektronenmicroscopie en het veldeffect

In **Hoofdstuk 3** namen we het veldeffect letterlijk onder de loep. Een van de kenmerken van het veldeffect is een verandering in de structuur van het DNA. Ons doel was dit te kwantificeren met behulp van analyses van elektronenmicroscopiebeelden van het wangslijmvlies van patiënten met keel-, long- en slokdarmkanker en controlepatiënten zonder kanker. Deze analyses werden verricht op beelden van normaal uitzienend wangslijmvlies, waarvan gedacht werd dat het onderdeel was van het veldeffect. De tumor zelf werd niet onderzocht. Grootschalige elektronenmicroscopiebeelden (nanotom) werden verkregen van zowel de kanker-, als controlepatiënten. Binnenin de celkern werd naar verschillende aspecten van de structuur van het DNA gekeken. Hierbij werden er significante verschillen gevonden tussen patiënten met en zonder kanker. Deze structuurverschillen waren zo subtiel dat ze met een normale microscoop niet zichtbaar zouden zijn. Deze bevindingen bevestigen dat deze ultrastructurele DNA-veranderingen in het veldeffect een vroeg teken zijn van de ontwikkeling van een mogelijke tumor. Mogelijk kunnen deze bevindingen in de toekomst bijdragen aan methodes om bepaalde tumoren eerder op te sporen. Ook zou het specialisten kunnen helpen bij het personaliseren van screenings-, en controlestrategieën van reeds behandelde kankerpatiënten.

Hoofdstuk 4. Optical Screening studie

In **Hoofdstuk 4** onderzoeken we een potentieel nieuwe methode, multidiameter single-fiber reflectance (MDSFR) spectroscopie, om het veldeffect op te sporen in het wangslimvlies van kankerpatiënten. Het innovatieve van deze methode is dat niet de tumor zelf, maar het veldeffect waarin deze zich bevindt aangetoond wordt. Wij hoopten dat detectie van dit veld voldoende discriminerend zou blijken om de aanwezigheid van een tumor elders in het veld waarschijnlijk te maken. Optische MDSFR spectroscopiemetingen werden *in vivo* verricht. Meerdere optische parameters werden gemeten die geassocieerd zijn met fysiologische en ultrastructurele eigenschappen van het onderzochte weefsel, in dit geval het wangslimvlies. Er werden analyses verricht om een optimale optische biomarker te bepalen die onderscheid kon maken tussen patiënten met en zonder kanker. In **Hoofdstuk 4a-c** onderzochten wij deze methode in patiënten met hoofd-hals-, long-, en slokdarmkanker.

In **Hoofdstuk 4a** werden de optische eigenschappen van het wangslimvlies van patiënten met keelkanker bepaald met behulp van MDSFR spectroscopie. Het zuurstofgehalte van het bloed en het volume van het bloed waren beide significant verlaagd in patiënten met keelkanker. De data van deze twee parameters werden gecombineerd tot een optische biomarker α . Alpha was lager in de keelkankergroep (0.28) dan de controlegroep (0.30, $p = 0.007$). Alpha was in staat de oncologische patiënten te voorspellen met een sensitiviteit van 78% en een specificiteit van 74%.

In **Hoofdstuk 4b** werd de dezelfde methode toegepast op patiënten met twee types slokdarmkanker (plaveiselcelcarcinomen (ESCC) en adenocarcinomen (EAC)). Twaalf ESCC, 12 EAC en 24 controlepatiënten werden geïncludeerd in de studie. De optische biomarker σ , een combinatie van twee verstrooiingsparameters, was significant hoger in ESCC patiënten (2.07 [1.93-2.10]) dan in de controlepatiënten (1.86 [1.73-1.95], $p = 0.022$). Sigma bleek ESCC patiënten te kunnen identificeren met een sensitiviteit van 66.7% en een specificiteit van 70.8%. Er waren geen significante verschillen tussen de EAC en de controlegroep.

In **Hoofdstuk 4c** werd dezelfde methode nogmaals gebruikt op 23 longkankerpatiënten, 24 patiënten met chronische obstructieve longziekte (COPD) en 36 controlepatiënten zonder COPD. De meerderheid van de tumoren waren niet-kleincellige longcarcinomen (96%) en geclassificeerd als stadium I (48%). Twee verstrooiingsparameters en de bilirubineconcentratie waren alle net niet significant verschillend tussen de longkanker-, en COPD-groep ($p = 0.072$, 0.058 , en 0.060 , respectievelijk). De best onderscheidende parameter had een sensitiviteit van 74% en een specificiteit van 63%. De zuurstofsaturatie

van het bloed in het wangslijmvlies van de longkankerpatiënten bleek significant hoger te zijn dan die van de COPD groep (78% vs. 62%, $p = 0.002$). Dit kwam waarschijnlijk door het systemische effect van COPD.

Hoofdstuk 5. Endoscopische screening: twee systematische reviews

In **Hoofdstuk 5** werd er in de bestaande literatuur onderzocht of er voldoende bewijs was om bij patiënten met hoofd-halskanker actief op zoek te gaan (screenen) naar tweede primaire tumoren (SPT) in de slokdarm. Ook onderzochten we of het zinvol was slokdarmkankerpatiënten te screenen op hoofd-hals SPTs. Twee systematische reviews werden verricht van alle studies die geavanceerde endoscopietechnieken gebruikten om de slokdarm te onderzoeken bij hoofd-halskankerpatiënten (**Hoofdstuk 5a**) en alle studies die slokdarmkankerpatiënten endoscopisch screenen voor de aanwezigheid van hoofd-hals SPTs (**Hoofdstuk 5b**).

Vijftien studies met een totaal van 3386 patiënten werden geïncludeerd in **Hoofdstuk 5a**. Bij 15% van de hoofd-halskankerpatiënten werd een slokdarm SPT gevonden. Deze prevalentie was het hoogst bij patiënten met een hypopharynx- (28%) of oropharynx tumor (14%). Deze sublocaties liggen het dichtst bij de slokdarm. De gedetecteerde SPTs werden geclassificeerd als hooggradige dysplasie in 49% van de casussen en als invasief carcinoom in de overige 51%. Gebaseerd op deze resultaten, werd er geconcludeerd dat er voldoende bewijs is om slokdarmscreening te verrichten bij hoofd-halskankerpatiënten. Een nieuwe studie (SCOPE) is gestart om te onderzoeken wat de daadwerkelijke prevalentie van slokdarm SPTs is in een Westerse populatie.

In **Hoofdstuk 5b** werden twaalf studies geïncludeerd, allen Japans, met een totaal van 6483 patiënten. De samengevoegde prevalentie was 6.7%. Dit was lager dan de 15% uit **Hoofdstuk 5a**. De heterogeniteit van de geïncludeerde studies was hoog ($I^2 = 89.0\%$, $p < 0.001$). Dit betekent dat ze moeilijk met elkaar te vergelijken waren. De meeste hoofd-hals SPTs waren in een laag stadium (85.3%) en gelokaliseerd in de hypopharynx (60.3%). Gebaseerd op deze resultaten lijkt het screenen van slokdarmkankerpatiënten op hoofd-hals SPTs minder noodzakelijk.

Hoofdstuk 6. LIGHT studie

Een uitdaging in de behandeling van hoofd-halskankerpatiënten is de benadering van patiënten die mogelijk verborgen uitzaaiingen in de lymfeklieren in de hals hebben. In

Hoofdstuk 7 onderzochten we of single-fiber reflectie (SFR) spectroscopie zou kunnen dienen als een alternatieve of aanvullende techniek om lymfeklieruitzaaiingen te detecteren. Er werden voor dit doel tijdens operaties SFR spectroscopiemetingen verricht van klieren met en zonder uitzaaiingen. Er werd vervolgens onderzocht of fysiologische en ultrastructurele eigenschappen van de positieve lymfeklieren veranderd waren ten opzichte van de normale lymfeklieren. Negen patiënten, met een totaal van negentien lymfeklieren, werden geïnccludeerd in deze studie. Drie optische parameters, het volume van het bloed, het zuurstofgehalte van het bloed en de 'Rayleigh amplitude' werden gecombineerd in een optische biomarker 'delta'. Delta had een hoge diagnostische nauwkeurigheid met een sensitiviteit, specificiteit, positief en negatief voorspellende waarde van 90,0%, 88,9%, 90,0%, en 88,9%, respectievelijk. Deze resultaten zijn de eerste stap richting de ontwikkeling van een SFR-spectroscopietechniek waarmee lymfeklieruitzaaiingen direct gediagnosticeerd kunnen worden.

Hoofdstuk 7. Discussie

De kern van dit proefschrift is het veldeffect. Hoe moet dit gedefinieerd, gedetecteerd en gekwantificeerd worden? Maar ook: hoe kan het gebruikt worden om het ontstaan van multiple primaire tumoren te verklaren, om te screenen voor tumoren en om lymfeklieruitzaaiingen te detecteren? De gepresenteerde resultaten zijn veelbelovend. Ik ben ervan overtuigd dat optische spectroscopie een toekomst heeft in kankerdiagnostiek. Het is een gemakkelijk te gebruiken, niet-invasieve en snelle methode die specialisten weefselinformatie geeft die nu nog niet benut wordt. Spectroscopie zal in de toekomst omarmd worden door artsen als hulpmiddel voor diagnose, verwijdering en controles van tumoren. Patiënten zullen hiervan profiteren door correcte en snelle diagnostiek, complete verwijdering van tumoren en optimale controlestrategieën.