

University of Groningen

## Exploring and validating innovative methods for detection and localization of head and neck squamous cell carcinoma primary tumors and lymph node metastases

van Schaik, Jeroen

DOI:  
[10.33612/diss.244286572](https://doi.org/10.33612/diss.244286572)

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2022

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*  
van Schaik, J. (2022). *Exploring and validating innovative methods for detection and localization of head and neck squamous cell carcinoma primary tumors and lymph node metastases*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.244286572>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## **APPENDICES**

**Nederlandse samenvatting**

**List of publications**

**Dankwoord**

**Curriculum vitae**



## Nederlandse samenvatting

In meer dan 60% van de patiënten met een plaveiselcelcarcinoom in hoofd-halsgebied (HHPCC) is op het moment van de diagnosestelling al sprake van lymfeklieruitzaaiingen (regionale metastasering). Deze regionale metastasering van HHPCC gaat gepaard met een slechte prognose: de 5-jaarsoverleving is minder dan 50%. Een andere factor die bijdraagt aan deze slechte prognose, is het onvolledig verwijderen van het kwaadaardige gezwel bij chirurgische behandeling. Nieuwe technieken om primair HHPCC en uitzaaiingen naar lymfeklieren mogelijk beter te kunnen detecteren of te visualiseren, zouden kunnen bijdragen aan het sneller stellen van de diagnose. Ook zou dit kunnen resulteren in het beter verwijderen door middel van chirurgie (d.w.z. het verminderen van het aantal chirurgische snijvlakken waar nog kanker in zit). Het doel van dit proefschrift is om verschillende relatief nieuwe technieken te onderzoeken die het detecteren en visualiseren van zowel de HHPCC primaire tumor, als ook de lymfekliermetastasen zouden kunnen verbeteren. Voor het detecteren en visualiseren van de HHPCC primaire tumoren, werd Narrow Band Imaging (NBI) en beeldvorming met fluorescentie onderzocht. Ook werd naar nieuwe HHPCC eiwitten gezocht, die specifiek alleen op de celmembranen van HHPCC cellen vóórkomen en voor gerichte beeldvorming met behulp van fluorescentie gebruikt zouden kunnen worden voor het exacter visualiseren van de tumoruitbreiding. Door een betere visualisatie zou dit niet alleen tot betere detectie, maar ook tot betere chirurgische resultaten kunnen leiden. Voor het opsporen van HHPCC lymfekliermetastasen werd gekeken naar de diagnostische waarde van het meten van concentraties van eiwitten die mogelijk alleen in HHPCC vóórkomen. Deze eiwitconcentraties werden gemeten in cellen, die met een dunne naald uit mogelijke lymfekliermetastasen werden opgezogen (aspiratie) voor analyse.

In **hoofdstuk 2** wordt een overzicht gegeven van een aantal bestaande optische technieken die zouden kunnen bijdragen aan de intraoperatieve detectie en visualisatie van HHPCC. Hierbij werden twee technieken uitgelicht: NBI en beeldvorming met fluorescentie (in het nabij-infrarood spectrum). Deze twee technieken worden namelijk steeds meer klinisch toegepast. NBI maakt door filtering van normaal wit licht, gebruik de golflengtes van blauw en groen licht om bloedvaten in de mucosa (slijmvlies) en direct onderliggende submucosa beter weer te geven. In het geval van HHPCC is er sprake van een afwijkend bloedvatpatroon, wat met NBI beter gezien kan worden dan met standaard wit licht. Beeldvorming met fluorescentie kan worden verricht met ongerichte middelen, zoals indocyaangroen (ICG), en maakt daarbij gebruik van verhoogde doorlaatbaarheid van nieuwe bloedvaten in tumorweefsel en de verminderde afvoer door het gebrek aan voldoende lymfedrainage. Gerichte middelen, zoals een fluorescerende stof (fluorofoor) gekoppeld aan een antilichaam, gericht tegen een eiwit dat specifiek is voor een bepaalde tumor, laten echter betere resultaten zien. Met beeldvorming met fluorescentie gericht op de epidermal growth factor receptor (EGFR) is een goede detectie van het HHPCC gevonden, met een sensitiviteit van 100% en specificiteit van 74-91%. Daarnaast kunnen extra tumorveldjes herkend worden, die anders zouden zijn gemist.

In **hoofdstuk 3** hebben we beide technieken met elkaar vergeleken bij het verwijderen van kwaadaardige tumoren uit de mondholte, om vast te stellen welke van deze twee technieken het

best zou kunnen worden gebruikt om tijdens de operatie de uitbreiding van de tumor te bepalen en dus ook de uitbreiding van de chirurgische verwijdering (resectie). De tumorbegrenzingsen, zoals gezien met NBI, werden door middel van drie hechtingen aan het begin van de operatie in de mond gemarkeerd. Dit werd vergeleken met de fluorescentie, waarvoor het op EGFR gerichte middel cetuximab-800CW gebruikt werd. De afstanden van de tumorbegrenzing bepaald met NBI tot de daadwerkelijke tumor, die op de histopathologische coupes werden vastgesteld, lieten zien dat NBI in meer dan de helft van de gevallen de tumorbegrenzing met 1 mm nauwkeurigheid kan bepalen. Met behulp van beeldvorming met fluorescentie was het vinden van de grens van de tumor echter net iets betrouwbaarder dan met NBI: de tumorbegrenzing werd met fluorescentie vaker binnen 1 mm en 5 mm weergegeven. Beide technieken lijken de grens van de tumor beter te bepalen dan zoals normaal gebruikelijk is met het blote oog bij normaal wit licht. NBI was met name minder geschikt voor grotere, uitgebreidere tumoren met submucosale uitbreiding, die te diep zijn (>240  $\mu\text{m}$ ) om nog met NBI gedetecteerd te kunnen worden. Aangezien NBI al beschikbaar is op veel standaard endoscopen, is dit gemakkelijker en goedkoper te gebruiken zonder dat een injectie van fluorescerende middelen nodig is. NBI is daarom beter dan de standaard beoordeling bij normaal wit licht en een goed alternatief voor beeldvorming met fluorescentie in kleinere tumoren zonder submucosale uitbreiding.

Voor de intraoperatieve visualisatie met fluorescentie is het contrast tussen de tumor en het omliggende, normale weefsel van groot belang. De verhouding tussen het signaal van de tumor en het omliggende weefsel wordt de tumor-to-background ratio (TBR) genoemd. Hoewel EGFR in 90% van de HHPCC tot expressie komt en met fluorescentie gericht op EGFR TBRs van 2.5 in vivo en 3.1-6.5 ex vivo gevonden zijn, is hier nog ruimte voor verbetering. Fluorescentie werd namelijk ook gezien in normale epitheelcellen en speekselklieren. Daarnaast hebben andere factoren nog invloed op de in vivo TBRs, zoals omgevingslicht, de hoek van de fluorescentiecamera en de afstand tussen de camera en de patiënt. Antilichamen die nog specifiek op HHPCC gericht zijn en niet op het omliggende normale slijmvlies, zouden de in vivo TBR kunnen verhogen, wat kan leiden tot verbeterde resultaten met in vivo beeldvorming en een nauwkeurigere chirurgische resectie als gevolg.

In **hoofdstuk 4** werd er daarom gezocht naar nieuwe potentiële doeleiwitten voor de detectie van HHPCC middels beeldvorming met fluorescentie. Om voor HHPCC zo specifiek mogelijke eiwitten te vinden, werd gebruik gemaakt van gegevens van eerdere analyses die op het internet beschikbaar zijn. Voor analyse van deze gegevens werd een biostatistische methode gebruikt die bekend staat als Transcriptional Adaptation to Copy Number Alterations (TACNA) profiling. Deze methode maakt gebruik van op het internet beschikbare gegevens over mRNA (een voorstadium van eiwitten) om overexpressie op eiwitniveau te kunnen voorspellen. Onze doeleiwitten hebben we geselecteerd op basis van de mate van a) overexpressie (zo hoog mogelijk), b) plasmamembraanexpressie (zoveel mogelijk op de celmembraan) en c) expressie in andere weefsels (zo laag mogelijk) die men intraoperatief tegen zou kunnen komen in de hoofd-halschirurgie. Dit heeft geleid tot vier potentiële doeleiwitten: glucose transporter 1 (GLUT-1), placentale cadherin (P-cadherin), monocarboxylate transporter 1 (MCT-1), en neural/gliaal antigen 2 (NG2). Deze bevindingen, gebaseerd op mRNA data, hebben we gevalideerd op eiwitniveau met behulp van immuunhistochemie. Hiervoor

hebben we biopten gebruikt van HHPCC, aanliggend verdacht weefsel, en normaal slijmvlies. De hoogste expressie werd gezien voor GLUT-1 en P-cadherine, die beide in 100% (mediaan) van de tumorcellen tot expressie kwamen. Daarnaast vonden we dat GLUT-1 en P-cadherine tot expressie kwamen in een significant hoger percentage tumorcellen dan het tot nu toe veel gebruikte EGFR. Aan de hand van deze resultaten op basis van immunohistochemie, lijken GLUT-1 en P-cadherine veelbelovende doeleiwitten voor beeldvorming met fluorescentie in HHPCC als alternatief voor EGFR. De expressie van GLUT-1 werd echter ook gezien in erythrocyten en P-cadherine expressie in de basale laag van het slijmvlies, wat zou kunnen leiden tot lagere TBRs. Daarnaast zijn er voor deze twee doeleiwitten nog geen antilichamen beschikbaar die in mensen mogen worden gebruikt.

In onze zoektocht naar potentieel betere doeleiwitten dan EGFR voor beeldvorming met fluorescentie, hebben we EGFR expressie vergeleken met antilichamen die al wel zijn goedgekeurd voor gebruik in mensen. Deze zijn glycoprotein nonmetastatic melanoma protein B (GPNMB) en vascular endothelial growth factor (VEGF). Voor VEGF bestaat bovendien al een antilichaam waaraan een fluorofoor is gekoppeld, bevacizumab-800CW. In **hoofdstuk 5** hebben we de expressie van GPNMB en VEGF vergeleken met die van EGFR in onbehandelde primaire HHPCC tumoren en de lymfekliermetastasen van dezelfde patiënten. Met behulp van immunohistochemie zagen we dat GPNMB tot expressie kwam in alle primaire tumoren en lymfekliermetastasen. Daarnaast kwam GPNMB tot expressie in een significant hoger percentage tumorcellen dan EGFR in zowel primaire tumoren als lymfekliermetastasen. De expressie van VEGF in primaire tumoren was met 92.1% vergelijkbaar met die van EGFR (86.8%) en tevens overeenkomstig met de literatuur. Onze conclusie was dat de hogere expressie van vooral GPNMB zou kunnen leiden tot hogere TBRs in het geval van intraoperatieve beeldvorming met fluorescentie.

Het volledig chirurgisch verwijderen van de tumor of lymfekliermetastasen is des te belangrijker in patiënten die al eerder zijn bestraald en/of chemotherapie hebben ondergaan. Voor hen is chirurgische verwijdering van nieuwe of resterende tumor vaak de laatste kans op genezing (salvage chirurgie). Voor deze patiëntengroep is de 5-jaarsoverleving 30-58%. In het geval dat verwijdering van tumorresten niet slaagt, is de prognose slechts zes tot negen maanden. Het optisch specifiek aantonen van nog aanwezige resten tumorweefsel in lymfeklieren na een eerdere bestraling, waarbij onderscheid gemaakt kan worden met lymfeklieren zonder tumorweefsel, zou kunnen helpen de betere operatieresultaten te verbeteren. Voorwaarde is dan wel dat gekozen wordt voor een antilichaam (met fluorofoor) dat ook na behandeling specifiek is voor lymfeklieren met tumorweefsel. In **hoofdstuk 6** hebben we daarom de expressie van GPNMB, VEGF en EGFR bepaald ná eerdere behandeling (met bestraling of chemotherapie). Dit gebeurde in lymfeklieren met tumormetastasen, met reactieve veranderingen (bijv. necrose) als gevolg van de eerdere behandeling, en normale lymfeklieren (allemaal van dezelfde patiënt). GPNMB kwam tot expressie in alle lymfekliermetastasen, terwijl EGFR in 86% tot expressie kwam. Dit is overeenkomstig met onze bevindingen van **hoofdstuk 5** en die beschreven in de literatuur. Daarnaast zagen we ook expressie van zowel GPNMB als EGFR in necrose, wat het in vivo beoordelen van fluorescentie voor de detectie van HHPCC zou kunnen bemoeilijken. VEGF kwam tot expressie

in alle lymfeklieren, ongeacht of er sprake was van HHPCC tumorcellen of niet. Aan de hand van deze immunohistochemische resultaten, lijkt GPNMB een veelbelovend doeleiwit voor beeldvorming met fluorescentie, die op zijn minst vergelijkbaar is met EGFR. VEGF lijkt minder geschikt te zijn voor toepassing in patiënten na eerdere bestraling of chemotherapie.

Resultaten uit immunohistochemische studies zijn echter niet direct te vertalen naar in vivo resultaten. Zo wordt voor in vivo EGFR-gerichte fluorescentie een sensitiviteit van 100% gerapporteerd voor de detectie van HHPCC, terwijl in de literatuur op basis van immunohistochemie EGFR expressie in slechts 87.5-92.5% van de tumoren wordt gezien. Ook zijn er positieve resultaten beschreven voor in vivo beeldvorming met fluorescentie gericht op VEGFA na bestraling. Het is daarom als volgende stap van belang om onze immunohistochemische resultaten te valideren in een muizenmodel of door het antilichaam topisch (bijv. met een spray) aan te brengen op een net verwijderde HHPCC.

Naast het detecteren van de primaire tumor, is het ook van belang om HHPCC lymfekliermetastasen vroegtijdig en zo goed mogelijk op te sporen. Het al dan niet aanwezig zijn van lymfekliermetastasen is namelijk niet alleen van belang voor het bepalen van het ziektestadium, maar bepaalt hiermee ook de keuze van de behandeling en dus de prognose. Als er een verdenking bestaat op lymfekliermetastasen, wordt er met een dunne injectienaald weefsel uit een klier of tumormassa opgezogen (aspiraats) genomen, welke vervolgens door middel van cytologisch onderzoek wordt beoordeeld (dit wordt ook wel een cytologische punctie genoemd). Deze cytologische punctie heeft een sensitiviteit van 82-92% en specificiteit van 97-100% voor het detecteren van HHPCC metastasen. Deze methode is echter arbeidsintensief en het duurt enkele dagen voor het resultaat bekend is. Daarbij dient het preparaat ook beoordeeld te worden door een deskundige en ervaren patholoog, gespecialiseerd in cytologie. Bij baarmoederhalskanker kan aan de hand van de concentratie van het squamous cell carcinoma antigen (SCC-Ag) in het bloed (serum) een uitspraak worden gedaan over de prognose. In HHPCC lieten SCC-Ag concentraties in het bloed echter geen relatie met het verdere ziektebeloop zien. SCC-Ag is nog niet eerder gemeten in puncties van halslymfeklieren en onze hypothese was dat dit als een objectief hulpmiddel zou kunnen dienen in de diagnose van HHPCC lymfekliermetastasen. Bovendien is deze bepaling goedkoop en kunnen de SCC-Ag concentraties binnen 2 uur bekend zijn, in tegenstelling tot de enkele dagen die het duurt voor de resultaten van de cytologische punctie. In **hoofdstuk 7** hebben we een retrospectieve pilot study uitgevoerd om de diagnostische waarde van SCC-Ag in halslymfeklierpuncties vast te stellen voor de detectie van HHPCC metastasen. Hiervoor hebben we puncties van patiënten gebruikt met een zwelling in de hals, welke niet alleen verdacht waren voor een HHPCC lymfekliermetastasen maar ook voor andere tumoren of goedaardige afwijkingen. We vonden de meest optimale afkapwaarde bij een SCC-Ag concentratie van 0,3 µg/L, wat overeenkomt met een sensitiviteit van 95.8% en specificiteit van 74.4% voor de detectie van HHPCC lymfekliermetastasen. Hoewel de sensitiviteit van SCC-Ag hoger is dan die van de cytologie, is de specificiteit relatief laag. Dit zou leiden tot veel vals-positieve resultaten. Op basis van deze resultaten stelden we vast, dat het meten van de SCC-Ag concentratie mogelijk als screening voor HHPCC metastasen kan worden toegepast, om een selectie te maken welke lymfeklieren door de patholoog middels cytologie beoordeeld moeten worden. Hiermee zou

de patholoog mogelijk veel werk kunnen worden bespaard en zou het kunnen leiden tot een sneller diagnostisch proces. Daarnaast hebben we met deze studie aangetoond dat het mogelijk is om überhaupt eiwitconcentraties te meten in lymfeklierpuncties en dat eventueel ook andere eiwitten gebruikt kunnen worden voor diagnostische doeleinden.

Om prospectief de diagnostische waarde van het meten van SCC-Ag in lymfeklierpuncties vast te kunnen stellen, hebben we de studie uitgevoerd die in **hoofdstuk 8** wordt beschreven. In deze studie werden nu patiënten beoordeeld met een massa in de hals die verdacht werd van een lymfekliermetastase, dus niet ook patiënten met schildkliertumoren of benigne afwijkingen. Daarnaast hebben we naast SCC-Ag aanvullend ook de concentratie gemeten van cancer antigen (CA) 15-3. Dit werd gedaan omdat in de retrospectieve studie naar voren kwam dat SCC-Ag vaak in cystes een verhoogde concentratie liet zien, wat tot vals-positieve resultaten leidde. CA15-3 is de opgeloste vorm van Mucine 1. Mucines komen voor op luminale epitheliale cellen op het apicale oppervlak van klierweefsel. Met het aanvullend meten van de CA15-3 concentratie was ons doel de vals-positieve resultaten (in bijvoorbeeld laterale halscystes) weg te filteren. Met een afkapwaarde van  $\geq 0,1$   $\mu\text{g/L}$  voor SCC-Ag vonden we een sensitiviteit van 89.4% en specificiteit van 79.3% voor de detectie van halslymfekliermetastasen van plaveiselcelcarcinomen. Hoewel we een hogere mediane concentratie van CA15-3 zagen in laterale halscystes, resulteerde het aanvullend meten van de CA15-3 concentratie niet tot een hogere accuratesse voor de detectie van halslymfekliermetastasen van plaveiselcelcarcinomen. We concluderen derhalve dat SCC-Ag een vergelijkbare sensitiviteit heeft als de cytologische beoordeling, maar dat de specificiteit lager is. Bovendien geeft het meten van de SCC-Ag concentratie geen classificerende diagnose. Het lijkt daarom niet mogelijk om SCC-Ag te kunnen gebruiken als screening voorafgaand aan de cytologische beoordeling. Wel zou het aanvullend kunnen dienen als een goedkoop extra hulpmiddel voor cytologische puncties waarbij geen (definitieve) diagnose gesteld kon worden, wat vóórkomt in 2.6-9.6% van de puncties. In deze puncties kan namelijk nog wel de SCC-Ag concentratie gemeten worden. In onze studie waren vier patiënten met een positieve SCC-Ag test, waarbij de cytologie vals-negatief was. In deze gevallen had SCC-Ag erop kunnen duiden dat bij deze patiënten vroegtijdiger vervolgonderzoek zinvol was geweest. Daarnaast kan SCC-Ag gebruikt worden voor stadiëring, aangezien gemakkelijk meerdere lymfeklieren (bijvoorbeeld van de contralaterale zijde) aangeprikt kunnen worden, zonder dat dit waarschijnlijk tot een grote toename van kosten of arbeidsdruk voor de patholoog leidt.

## List of publications

Squamous cell carcinoma antigen concentration in fine needle aspiration samples: A new method to detect cervical lymph node metastases of head and neck squamous cell carcinoma.

**van Schaik JE**, Muller Kobold AC, van der Laan BFAM, van der Vegt B, van Hemel BM, Plaat BEC.  
*Head Neck*. 2019 Aug;41(8):2561-2565.

Glycoprotein Nonmetastatic Melanoma Protein B as Potential Imaging Marker in Posttherapeutic Metastatic Head and Neck Cancer.

**van Schaik JE**, Hanemaaijer SH, Halmos GB, Witjes MJH, van der Laan BFAM, van der Vegt B, Plaat BEC.

*Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020 Dec;163(6):1202-1208.

An overview of the current clinical status of optical imaging in head and neck cancer with a focus on Narrow Band imaging and fluorescence optical imaging.

**van Schaik JE**, Halmos GB, Witjes MJH, Plaat BEC.

*Oral Oncol*. 2021 Oct;121:105504.

SCC Antigen Concentrations in Fine-Needle Aspiration Samples to Detect Cervical Lymph Node Metastases: A Prospective Analysis.

**van Schaik JE**, Muller Kobold AC, van der Laan BFAM, van der Vegt B, van Hemel BM, Plaat BEC.

*Otolaryngol Head Neck Surg*. 2022 May:1945998221102870.



## Dankwoord

Hoewel mijn naam voorop dit proefschrift staat, was het er met mij alleen zeker niet gekomen. Allen die in de afgelopen jaren hebben bijgedragen aan de totstandkoming van dit resultaat ben ik hiervoor dankbaar. Zowel direct (onder werktijd) als indirect (ná werktijd), want de afleiding 's avonds zorgde ervoor dat ik de volgende dag er weer tegenaan kon. Hoewel ik velen hierna zal benoemen, is deze opsomming ongetwijfeld incompleet.

Geachte prof. dr. B.F.A.M. van der Laan, beste Bernard, ik waardeer het zeer dat je mij als je eerste MD/PhD-student onder je wilde nemen, en dat je ook na je vertrek als promotor betrokken wilde blijven. Voor vragen of feedback kon altijd rekenen op snel en goed antwoord. Dat kon ik ook medeauteurs vertellen, als zij dachten dat ik een oud emailadres had doorgegeven door je afwezigheidsmelding. Eigenlijk is alles altijd erg soepel verlopen, hartelijk dank voor al je inzet vanaf begin tot eind om dit mogelijk te maken.

Beste Boudewijn, ik had me geen andere begeleider kunnen wensen. Je bent altijd enthousiast, open, meedenkend, motiverend, inspirerend en hebt goede feedback, of het nou om onderzoek ging, sollicitaties in het buitenland, of beklimmingen met de racefiets in de Franse Alpen. Toen door logistieke redenen mijn wetenschappelijke stage te langzaam vorderde voor een tijdige MD/PhD-sollicitatie, had je het vertrouwen om mij met een datasetje dat je nog had liggen aan de slag te laten gaan. We wisten alles op tijd rond te krijgen. Je manier van begeleiden, door met vertrouwen mij zelfstandig mijn gang te laten gaan maar altijd betrokken te blijven, heb ik erg gewaardeerd. Aangezien nog niet alle studies gepubliceerd zijn, hebben we in ieder geval de komende tijd nog een excuus om contact te blijven houden. En je bent natuurlijk altijd welkom in Bazel!

Beste Bert, je kritische blik en goede input heeft menig artikel aangescherpt. Naast je inhoudelijke feedback, hebben we ook een prettige samenwerking gehad, waarin je altijd tijd probeerde vrij te maken of een gaatje wist te vinden om samen coupes te beoordelen. Daarnaast heb ik een leerzaam inkijkje in de pathologie gekregen, waarvoor dank. Hoewel je pas later officieel mijn copromotor bent geworden, is dit geheel terecht: je bent bij elke studie betrokken geweest, vanaf mijn stage wetenschap tot en met het eind van mijn promotietraject.

Van de medeauteurs wil ik graag Anneke bedanken voor haar inzet om de SCC-Ag studies op te zetten en het snelle uitvoeren van (na)metingen. Ook kon ik altijd op goed inhoudelijk commentaar rekenen, dat ik bij tijdgebrek soms handgeschreven in de kant mocht ontcijferen, maar het kwam in ieder geval snel terug! Gyuri bedankt voor je enthousiasme voor onderzoek en wil om met stukken mee te schrijven en deze altijd weer van sterke feedback te voorzien – of als we even tijd hadden, voor onze gesprekken over zwemmen. Max, hoewel we elkaar niet vaak hebben gezien, zit jouw deskundigheid op het gebied van imaging door dit proefschrift verweven. Dank voor deze input en alles wat je me hierover hebt bijgebracht!

Rudolf en Sjoukje, als medisch oncologen hadden jullie soms een andere invalshoek die weer tot nieuwe inzichten konden leiden en dit proefschrift ten goede zijn gekomen. Heel hartelijk dank voor de tijd en moeite die jullie, naast een al erg volgeplande agenda, toch wisten te vinden voor deze onderzoeken. Rudolf in het bijzonder bedankt voor het uitvoeren van de TACNA analyse voor hoofd-halstumoren, zonder welke ik hoofdstuk 4 van dit proefschrift had kunnen schrappen. Verder wil ik Bettien bedanken voor haar bijdrage aan de SCC-Ag studies, die zonder haar cytologische beoordelingen en feedback niet mogelijk waren geweest. Ook Saskia bedankt voor je input voor de GPNMB studies én natuurlijk het voorwerk dat jij jaren geleden hiervoor hebt uitgevoerd!

Van de OMIG wil ik graag Floris, Jaron en Jasper danken voor hun inzet en inhoudelijk sterke input voor hoofdstuk 3. In het bijzonder dank aan Floris voor het samen opzetten en in gang zetten van deze studie, en Jaron voor het grootste deel van de uitvoering en het samen schrijven van het manuscript - op welk moment van de dag of feestdag dan ook. Jaron, het was leuk om zo met jou mijn studententijd écht gedag te zeggen, die tien jaar geleden begon toen je mij als kersvers studentje leerde kennen.

Hooggeleerde leden van de leescommissie, prof. dr. J.A. Gietema, prof. dr. S.M. Willems en prof. dr. C.L. Zuur, hartelijk dank voor het kritisch lezen en deskundig beoordelen van dit proefschrift.

Beste Lorian, eindelijk ben je van mijn gedram af! Hoewel het niet altijd makkelijk was om mijn nieuwe antilichamen te testen en al mijn coupes ergens tussendoor te moeten kleuren, wist je het toch voor elkaar te krijgen en heb ik, mede door jouw inspanningen, mijn promotieonderzoek voor de deadline af weten te krijgen. Heel erg bedankt voor je inzet!

Van de afdeling pathologie wil ik graag prof. dr. E.M.D. Schuuring bedanken voor zijn input tijdens het wekelijkse KNO/Pathologie overleg. Daarnaast mogen Teus en de cytologisch analisten niet ontbreken, die tweeënhalf jaar lang elke week de aspiraten in Cytolyt hebben bewaard voor mijn onderzoeken. Van de uitsnijkamer wil ik Erik en Maaïke bedanken, die elke keer weer creatief te werk moesten gaan om met de extra hechtingen in het preparaat rekening te houden.

Op de achtergrond hebben nog vele medewerkers van het secretariaat radiologie en laboratorium bindingsanalyse bijgedragen aan een goed verloop van patiënteninclusie en uitvoeren van metingen. Hartelijk dank hiervoor!

Hoewel ik zeker de helft van mijn onderzoekstijd verplicht thuis heb moeten werken, heb ik tot 2020 in het aquarium (aka de Vissenkomp) een leuke tijd gehad met Jeroen, Peter, Dana, Carlos, Friso, Bram en Constanze. De koffiepauzes, koffiebekergooicontests en kortstondig ingevoerde krokettenvrijdag zorgde voor de nodige ontspanning en lol tijdens de daglichtloze

werkdagen in ons hok. Ook Nick bedankt voor het gezelschap, voor zover dat af en toe was toegestaan, in ons luxe eigen kantoortje op de derde verdieping, waar we konden bijpraten en informatie (of frustraties) uitwisselen over het afronden van onze onderzoeken.

Ook wil ik Sebastiaan, Tamar en Roeland bedanken voor hun inspanningen om op te komen voor onze rechten als MD/PhD-beurspromovendi. De zaak zal straks langer geduurd hebben dan mijn promotietraject, waar zij namens alle beurspromovendi vele uren in hebben geïnvesteerd.

Beste Bobby, dit hele verhaal begint eigenlijk toen wij het eens over jouw promotieonderzoek hadden en jij voor mij wel 'een balletje bij je promotor' kon opgooien of onderzoek op dat gebied niet ook in de KNO mogelijk was. Een paar weken later zat ik voor het eerst met Boudewijn om tafel mijn stage wetenschap en eventuele MD/PhD uit te stippelen. Heel leuk dat je mijn paranimf wilt zijn en zo ook bij de afsluiting betrokken bent! Daarnaast hebben we twee jaar als huisgenoten veel van elkaars wetenschappelijke inspanningen meegekregen, maar vooral ook veel samen ontspant in zowel binnen- en buitenland. Op nog vele avonturen!

Beste Zoë, hoewel we elkaar na Oldenburg en een paar maanden Tanzania voorafgaand aan mijn stage wetenschap al behoorlijk goed kenden, hebben we in de afgelopen jaren samen nog veel meer beleefd en zijn we hechte vrienden geworden. Als ik even mijn hart moest luchten of gewoon een biertje wilde drinken, kon ik altijd bij je terecht. En jij kunt altijd hier terecht: je bent na een paar maanden al mijn trouwste Zwitserlandbezoeker. Het was voor mij dan ook een geen moeilijk besluit om jou te vragen als paranimf, dank dat je vandaag aan mijn zijde staat!

Om mijn hoofd leeg te maken na een dag achter het beeldscherm, was één van de trainingen bij G.S.T.V. Tritanium de perfecte uitlaatklep. Dank aan iedereen met wie ik sportief heb kunnen inspannen of achteraf heb kunnen ontspannen. In het bijzonder iedereen van de Lekker Thuisgroep, wat geworden is tot een hechte vriendengroep van wat ooit allemaal Tritaniumleden waren (voor zover niet al eerder genoemd): Alex, Anne, Ernst, Fenna, Franciska, Jesse, Jolanda, Leander, Lotte, Marieke, Telma en Thijs. Wat jullie voor mij betekenen is helaas te lang voor dit dankwoord; ik hoop met jullie nog vele fietsritjes, (fiets)vakanties, festivals, borrels en andere feestjes te mogen beleven!

Mijn huisgenoten van de W.A. Scholtenstraat, Emile, Emese en Laurent, mogen ook zeker niet ontbreken in dit dankwoord. Vele uurtjes hebben we samen 's avonds in de keuken doorgebracht en bij gelegenheid in de stad, op festivals, met oud-huisweekenden, of huisfeesten. Daardoor kon ik er altijd weer met frisse moed tegenaan. Hoewel dat na een avond met Laurent misschien niet altijd even goed opgaat...

Daarnaast wil ik mijn bestuursgenootjes Ina, Alex, Friederike en Anne vW bedanken voor het mooie bestuursjaar bij G.S.T.V. Tritanium dat wij samen hebben mogen beleven in 2018/2019. Dit was voor mij een leuke afleiding van het onderzoek waar ik me een jaar lang op heb kunnen storten.

Ook wil ik Adriaan bedanken voor alle potjes en koffietjes die we tijdens de lockdowns samen hebben doorgebracht, dit was een mooie ontspanning na (of soms toch onder?) werktijd! Roeland, bedankt voor de fietsritjes die we niet heel regelmatig planden, maar heerlijk waren om even uit te waaien en bij te praten over ons onderzoek en het leven.

Haring, het is altijd enorm inspirerend om met jou te praten en ideeën uit te wisselen. Ik hoop dat we elkaar nog af en toe blijven zien, ondanks dat ik nu ver weg zit. Of zit jij over een paar jaar hier ook?

Richard en Sara, hoewel jullie 'ver weg' wonen, was het altijd enorm gezellig, leuk en als vanouds als we elkaar weer eens zagen. Jullie gastvrijheid waardeer ik enorm en ik weet dat ik altijd op jullie kan rekenen. Dank hiervoor!

Eddy en Janine, jullie hebben mij altijd vrijgelaten om te doen wat ik wil en mij hierin gestimuleerd. Zonder oordeel kan ik met alles bij jullie terecht. De twee weken bij jullie thuiswerken om tijdens de lockdown even van omgeving te veranderen, voelde net zo vertrouwd als vroeger. Dank voor jullie onvoorwaardelijke steun en toeverlaat, waardoor ik heb kunnen worden wie ik nu ben en dit alles heb mogen bereiken.

Opa Wim, eerst wist je het te volbrengen tot mijn diplomering. Je telde er nog twee jaar bij op om het tot mijn promotie uit te houden. Ontsteld was je toen je hoorde over mijn 6 maanden covid-verlenging en dat het tot de promotie nog wel een paar maanden langer zou duren. Gelukkig ben je met dagelijkse fietsritjes en wandelingen zo fit gebleven, dat je het gemakkelijk hebt volgehouden! Bedankt voor je onuitputtelijke gastvrijheid en interesse in mijn onderzoek en promotie, waar je net zolang over doorvraagt tot je het echt begrijpt.

## **Curriculum vitae**

Jeroen Eduard van Schaik was born on the 25<sup>th</sup> of October 1993 in Amersfoort, the Netherlands. He finished his bilingual pre-university education (VWO) in 2012 at 't Atrium in Amersfoort. In the same year, he started studying Medicine at the Rijksuniversiteit Groningen. During his very first intership, Otorhinolaryngology at the Martini Hospital in Groningen in 2015, his interest for the specialty was caught. In the following year in Oldenburg, Germany, it was head and neck surgery that fascinated him most. This led him to dr. Plaat at the University Medical Center Groningen for his research clerkship early 2018, and resulted in the successful application for the MD/PhD-program a few months later. Within the first month of his PhD, he applied for the Van der Meer-Boerema grant, which he received in April 2019 to support the SCC-Ag studies. He has been invited to present his work several times in oral and poster presentations nationally and internationally. After finishing his PhD and having lived in Groningen for nearly 10 years, he decided it was time to move out and applied in Switzerland. Since April 2022 Jeroen has been working at the General Surgery department at the Kantonsspital Uri (Altdorf, Switzerland), and will start as a resident at the department of Otorhinolaryngology at the Universitätsspital Basel next week.

