

University of Groningen

Fluorescently labelled monoclonal antibodies for real-time molecular imaging

Linssen, Matthijs

DOI:
[10.33612/diss.566494449](https://doi.org/10.33612/diss.566494449)

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:
2023

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

Citation for published version (APA):

Linssen, M. (2023). *Fluorescently labelled monoclonal antibodies for real-time molecular imaging: pharmaceutical development of near-infrared tracers and their application in clinical settings*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.566494449>

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.



CHAPTER 11

Summary in Dutch

Nederlandse samenvatting



SAMENVATTING

Moleculaire beeldvorming (molecular imaging) is een verzamelnaam voor verschillende diagnostische technieken die gaan om het *in vivo* onderscheiden en meten van biologische processen op een moleculair en cellulair niveau. Deze moleculaire component is het belangrijkste verschil met anatomische beeldvorming. Anatomische beeldvorming maakt afwijkingen in de grootte en vorm van het weefsel zichtbaar, terwijl moleculaire beeldvorming berust op veranderingen in eiwitexpressie of cellulaire functie. Met moleculaire beeldvorming kan een ziekte daarom al worden waargenomen voordat de anatomische integriteit van het weefsel is verstoord. De meest gebruikte vorm van moleculaire beeldvorming is het maken van scans met radioactieve isotopen (nucleaire beeldvorming) gekoppeld aan een specifiek bindende drager-stof. Zowel Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) als Positron Emitted computed Tomography (PET) zijn in de kliniek beschikbaar voor het afbeelden van tumoren en ontstekingen. Het gebruik van radionucliden biedt de mogelijkheid om scans te maken van het gehele lichaam en kan de locatie en grootte van meerdere laesies binnen 1 afbeelding weergeven, maar de resolutie van de afbeeldingen is laag. Zowel het maken van de afbeelding als interpretatie van de beelden is tijdrovend, en daarnaast is er een risico van stralingsbelasting voor zowel ziekenhuismedewerkers als patiënten. De isotopen die nodig zijn voor nucleaire beeldvorming hebben een korte halfwaardetijd, wat een beperking vormt voor hun bruikbaarheid en kan zorgen voor logistieke uitdagingen in de productie en toediening van het de isotopen. Wanneer chirurgisch ingrijpen nodig is, wordt een nucleaire of anatomische scan vaak dagen tot weken voor de invasieve procedure uitgevoerd. De verwerkte beelden zijn beschikbaar tijdens de ingreep, maar opties voor beeldvorming die direct inzichtelijk is in de operatiekamer of endoscopiekamer tijdens een ingreep zijn beperkt. Een alternatieve optie voor moleculaire beeldvorming tijdens invasieve procedures is daarom gewenst.

Optische moleculaire beeldvorming (Optical molecular imaging) is een nieuwe techniek die deze niche zou kunnen vullen. Deze techniek maakt gebruik van fluorescent licht in plaats van radioactieve straling om ziekte af te beelden. Optische beeldvorming kan worden uitgevoerd met een specifieke kleurstof, maar is in de afgelopen jaren is ook onderzoek uitgevoerd met optische moleculaire beeldvorming op basis van specifiek bindende contraststoffen (fluorescente tracers). Een tracer kan worden ontworpen op basis van de biochemische eigenschappen van een ziektebeeld. De tracer richt zich op weefsels met een bepaald moleculair profiel en verplaatst zich vanuit het bloed naar dit weefsel, waar de fluorescente kleurstof zich concentreert. Op deze manier kunnen specifieke soorten weefsel worden voorzien van een fluorescent “contrast” wat direct in de operatiekamer kan worden afgebeeld en als video kan worden gepresenteerd aan de chirurg. Het gebruik van kleurstoffen die fluoresceren in het nabij-infrarood lichtspectrum

(NIR; 650 – 1000 nm) heeft de voorkeur voor tracers voor optische beeldvorming omdat fluorescentie bij deze golflengte minder absorptie, verstrooiing en reflectie van het licht laat zien. Hierdoor resulteert deze vorm van beeldvorming in een helder signaal van hoge resolutie dat tot enkele millimeters in weefsel kan penetreren. De fluorescente kleurstoffen (dyes) zijn eenvoudig te binden aan verschillende soorten moleculen zoals antilichamen, nanobodies en kleine peptiden, wat het mogelijk maakt om deze techniek flexibel toe te passen en verschillende aspecten van een ziekte af te beelden.

Hoewel de binding van kleurstof aan een dragerstof in de regel eenvoudig is, zijn tracers die zijn geproduceerd in het lab niet geschikt voor toepassing in patiënten. Nieuwe moleculen moeten een proces ondergaan wat klinische translatie wordt genoemd, waarin uitgebreide ontwikkeling en karakterisatie wordt uitgevoerd om de eigenschappen van de tracer vast te leggen. Daarnaast wordt het productieproces onderzocht en verfijnd om te kunnen voldoen aan de eisen van de Goede Manier van Producteren richtlijnen (Good Manufacturing Practice, GMP). Deze documentatie vormt tevens de fundering voor een dossier over de tracer, wat later in het proces gebruikt kan worden bij de indiening van het onderzoeksvoorstel bij de toetsingscommissie. Deze klinische translatiestappen zijn echter kostbaar en tijdrovend, en daarom niet altijd haalbaar voor onderzoeksgroepen om uit te voeren.

Het **doel van dit proefschrift** is om een overzicht te geven van verschillende fases binnen de ontwikkeling, translatie en toepassing van optische tracers voor beeldvorming tijdens invasieve procedures in het veld van oncologie en gastro-enterologie. De focus ligt hierbij op de stappen die nodig zijn voor de translatie van een tracer die op een laboratorium wordt geproduceerd naar een geneesmiddel voor onderzoek (Investigational Medicinal Product, IMP) geschikt voor toepassing in een fase I klinische studie. Daarnaast wordt de toepassing van verschillende op antilichaam gebaseerde tracers, die zijn ontwikkeld binnen het gepresenteerde framework, beschreven.

De initiële fase van tracer ontwikkeling wordt beschreven in **hoofdstuk 2**. Dit hoofdstuk beschrijft experimenten die in het laboratorium worden uitgevoerd voor de conjugatie en het testen van het primaire werkingsmechanisme van de fotodynamische tracers. Fotodynamische tracers kunnen naast beeldvorming ook een therapeutisch doel dienen, omdat ze een celdodend effect hebben na activatie met een lichtbron. De tracers cetuximab-IRDye700DX (specifiek voor humane epidermale groeifactor receptor 1; EGFR) en trastuzumab-IRDye700DX (specifiek voor humane epidermale groeifactor receptor 2; HER2) konden worden geproduceerd met een dye per eiwit ratio van 4:1. Het bewijs voor het concept van de tracer is onderzocht door de tracer te laten binden met 4 verschillende cellijnen (2 lijnen slokdarm adenocarcinoom, 1 lijn niet-kleincellig longcarcinoom en 1 lijn borstkanker) en te bestralen met meerdere intensiteiten van fluorescent licht (dosis gebaseerd op tijd van bestraling). De behandeling met cetuximab-IRDye700DX en NIR licht resulteerde in een cytotoxiciteit

van 54%, een significante toename in vergelijking met een equivalente dosis niet-geconjugeerde IRDye 700DX (2%; $p = 0,017$), of na het blokkeren van de specifieke binding aan de cellen door het geven van een overmaat cetuximab (6%; $p = 0,017$). Wanneer de cellen vooraf behandeld werden met een tyrosine kinase remmer om de expressie van EGFR en HER2 receptoren te stimuleren, werd een verdere toename in celdood gezien van 39% na de behandeling met cetuximab-IRDye700DX en een toename van 24% na de behandeling met trastuzumab-IRDye700DX. Deze verkennende experimenten laten zien dat tracers op basis van binding aan EGFR of HER2 een veelbelovende strategie zijn voor nabij-infrarode fotodynamische therapie. Daarnaast komen uit de conjugatie experimenten de eerste data voor het opstellen van de (standaard) conjugatie methode, chemisch-farmacologische eigenschappen van het geconjugeerde product en een functioneel proof-of-principle. Deze data vormen de basis voor optimalisatie en karakterisatie, wat in de tweede ontwikkelingsfase wordt uitgevoerd.

De tweede fase is gericht op uitgebreidere karakterisatie van de tracer door uitgebreidere analyses gericht op de eigenschappen van het eiwit in kwestie uit te voeren. Deze karakterisatie stelt vast of de tracer nog steeds dezelfde eigenschappen heeft als het antilichaam waar de tracer op gebaseerd is. Daarnaast wordt een formulerings- en stabiliteitsstudie uitgevoerd om de bewaartermijn van het product te optimaliseren. De tweede fase omvat ook het testen van de veiligheid voor pre-klinische en klinische onderzoeken door middel van toxiciteitsstudies. Deze tests worden beschreven voor de tracer bevacizumab-800CW in **hoofdstuk 3**. Het labellingsproces voor dit molecuul koppelde de fluorescente dye in een dye per eiwit ratio van 4:1, wat na labeling de originele eiwitstructuur behield en dat nog steeds functioneel was in de karakterisatie experimenten. Bij het uitvoeren van de toxiciteitsstudie in proefdieren werden geen toxische effecten waargenomen op 100x en 1000x de beoogde microdosis voor klinische toepassing (een microdosis is 30 nmol voor een volwassen persoon, zonder aanpassing voor het lichaamsgewicht, wat overeenkomt met 4,5 mg bevacizumab-800CW). Op basis van dit proces werden batches bevacizumab-800CW geproduceerd voor een klinische studie, waarbij voor elke patiënt apart werd geproduceerd. Deze producten hadden slechts een korte houdbaarheid en er vormden aggregaten in oplossing na productie. Aanvullende ontwikkelings-experimenten zijn uitgevoerd om het proces opnieuw te ontwerpen. Het vernieuwde proces verlaagde de dye per eiwit ratio van 4:1 naar 2:1, en een langere houdbaarheidstermijn werd onderzocht in meerdere formuleringen van het eindproduct. Na het observeren van de houdbaarheid gedurende 1 maand in een initiële stabiliteitsstudie werd geconcludeerd dat bij een bufferoplossing met natriumchloride of trehalose voor het stellen van de isotoniciteit het product het meest stabiel was. Een uitgebreidere stabiliteitsstudie werd uitgevoerd voor beide formuleringen, waarin werd aangetoond dat het gelabelde eiwit gedurende 3 maanden intact bleef, 90-110% van zijn oorspronkelijke concentratie behield,

en enkel lage hoeveelheden onzuiverheden liet zien wanneer het product werd geformuleerd in 50 mM natrium fosfaat buffer bij pH 7,0 en opslag bij 2-8°C. Deze formulering werd daarna gebruikt voor productie van tracer voor klinisch onderzoek. De resultaten in dit hoofdstuk illustreren aanvullend ontwikkelingswerk en klinische translatie, wat gegevens oplevert voor het productdossier (Investigational Medicinal Product Dossier, IMPD) en de studietoelatingaanvraag, en daarmee de basis vormt voor het uitvoeren van klinisch onderzoek.

Meerdere fase I klinische onderzoeken zijn uitgevoerd met de tracer bevacizumab-800CW nadat het proces was geoptimaliseerd en de tracer in de geoptimaliseerde samenstelling was geproduceerd onder GMP. Twee van deze onderzoeken zijn beschreven in **hoofdstuk 5 en hoofdstuk 6**. **Hoofdstuk 5** beschrijft een dosis-escalatie studie voor bevacizumab-800CW, waar 26 patiënten met invasieve T1-T2 borstkanker, die in aanmerking kwamen voor chirurgische verwijdering van de tumor, bij zijn geïncludeerd. De patiënten kregen een dosis bevacizumab-800CW (4,5 mg; 15 mg; 25 mg of 50 mg) 3 dagen voor de borstsparende chirurgische ingreep. Tumor-specifieke targeting, en het fluorescente signaal van deze tracer konden worden gebruikt voor beeldvorming op meerdere niveaus. Het was mogelijk om intra-operatieve fluorescente beeldvorming uit te voeren, en daarnaast kon *ex vivo* op meerdere manieren het signaal worden vastgelegd: een scan van het intacte verwijderde weefsel, scans versneden plakjes (“breadloaf slices”) van het weefsel en scans van formaline-gefixeerde in paraffine ingebedde (formalin-fixed paraffin embedded, FFPE) weefselcoupes. Het signaal kon worden afgebeeld op zowel een fluorescente flat-bed scanner als een fluorescentie-microscop. Binnen deze groep van 26 patiënten werd bij 8 mensen een positieve resectiemarge vastgesteld, die niet was opgemerkt door de standaardprocedures van inspectie en palpatie. Bij 7 van deze 8 patiënten had de positieve marge kunnen worden vastgesteld op basis van de fluorescente beelden, overeenkomstig met een 88% toename van de intra-operatieve detectiegraad van tumor-bevattende marges. Dit hoofdstuk beschrijft daarnaast ook een analytisch protocol dat als standaard evaluatiemethode kan worden gebruikt voor klinische data afkomstig uit fluorescentie-geleide chirurgie studies. Het framework bestaat uit: (i) kwalitatieve intra-operatieve macroscopische beeldvorming om een potentiële klinische waarde van fluorescent-geleide chirurgie te bepalen, (ii) kwalitatieve *ex vivo* data van het onbewerkte geresecteerde weefsel, (iii) kwantitatieve *ex vivo* beeldvorming van de onbewerkte weefselplakjes om de macroscopische verdeling van tracer te bepalen, (iv) kwantitatieve bepaling van intrinsieke fluorescentie waarde door middel van multi-diameter single fiber reflectance – single fiber fluorescence (MDSFR/SFF), (v) scans van FFPE blokjes en 10µm coupes op een flatbed scanner en (vi) fluorescentie microscopie. Dit analytisch framework is robuust en kan breed worden ingezet. Daarnaast kan het ondersteunen bij de ontwikkeling van standaard evaluatiemethodologie voor het gebruik van gegevens uit klinische onderzoeken met fluorescente beeldvorming in de klinische translatie van tracers.

De klinische translatie van tracers is in veel gevallen het meest tijds- en kosten-intensieve deel van het ontwikkelproces als gevolg van de extra tests die nodig is en de te schrijven documentatie bij het doorlopen van elke stap. Aangezien specifieke richtlijnen voor ontwikkeling van optische tracers nog niet beschikbaar zijn, hebben we een gestandaardiseerde aanpak opgezet voor alle vereiste activiteiten en bijbehorende rapporten om een IMPD op te bouwen. Deze aanpak is beschreven in hoofdstuk 4, in de vorm van de “Optical tracer development roadmap”. Deze roadmap beschrijft de minimale eisen voor het type en de hoeveelheid data die verzameld moet worden om met de tracer een succesvol traject naar de eerste klinische trial af te kunnen leggen. De roadmap is toegepast op de ontwikkeling van cetuximab-800CW en trastuzumab-800CW. Beide antilichamen zijn met succes geconjugeerd, en er is onderzoek gedaan naar de verenigbaarheid van de tracers met verschillende formuleringsbuffers en de stabiliteit van de tracer in oplossing. Cetuximab-800CW is getest in 7 formuleringen en trastuzumab-800CW in 10 formuleringen. Op basis van de stabiliteit van de moleculen in oplossing in deze eerste formuleringsstudie zijn 2 formuleringen per molecuul gekozen om op volledige schaal uit te testen in een stabiliteitsonderzoek. Voor cetuximab-800CW dat is geformuleerd in 50 mM fosfaat buffer, pH 7,0, geconjugeerd met een dye per eiwit ratio van 2:1, en voor trastuzumab-800CW in 10 mM fosfaat buffer, pH 7,0, geconjugeerd met een dye per eiwit ratio van 1:1 werd gevonden dat ze gedurende 3 maanden stabiel bleven indien opgeslagen bij 2-8°C. Door het toepassen van de roadmap was voor beide antilichamen voldoende informatie verzameld om een productdossier te vullen voor toepassing in klinische fase 0/1 studies. De resultaten van de toepassing van cetuximab-800CW zijn te vinden in publicaties van Voskuil et al. (1) en Vonk et al.(2) De intentie achter de roadmap was ook om deze toepasbaar te maken op andere tracers gebaseerd op antilichamen, en kan onderzoekers op weg helpen tijdens de ontwikkeling van een product dat geschikt is voor humane toepassing. Daarnaast kan de roadmap ook het huidige gebrek aan officiële richtlijnen voor de productie van optische tracers opvullen.

Het laatste deel van dit proefschrift gaat over het toepassen van de gestandaardiseerde methoden voor ontwikkeling van tracers in twee nieuwe vakgebieden voor optische beeldvorming. Als eerste wordt de mogelijkheid voor het gebruik van 2 tracers in multispectrale optische beeldvorming tijdens checkpoint inhibitie therapie onderzocht. Hoofdstuk 7 beschrijft de ontwikkeling en karakterisatie van een complementair paar tracers, dat kan worden ingezet voor gelijktijdig afbeelden van PD-1 en PD-L1, twee eiwitten in de checkpoint inhibitie-as. Dit hoofdstuk laat de succesvolle ontwikkeling zien van durvalumab-680LT en nivolumab-800CW. Door individuele tracers met unieke fluorescentie spectra te richten op elk een individuele receptor kunnen zowel tumorcellen met overexpressie van PD-L1 als infiltrerende lymfocyten die PD-1 tot expressie brengen worden afgebeeld. Gebieden waar interactie plaatsvindt tussen het immuunsysteem en de tumorcellen zijn dan zichtbaar door overlap van de fluorescente signalen.

Nivolumab en durvalumab conjugeerden aan de kleurstoffen met een hoge efficiëntie van 76,68% - 88,42%, lieten geen formatie van aggregaten zien en waren zuiver, met minder dan 3% ongeconjugeerde dye in oplossing. Het productieproces voor de tracers is geoptimaliseerd op twee factoren: de tijd nodig voor de conjugatie en de hoeveelheid dye die per eiwit wordt toegevoegd aan de reactie. Het uiteindelijke proces koppelt de dye per eiwit ratio van 2:1 gedurende 1 uur. Een formuleringsstudie liet zien dat er meerdere opties waren voor formuleringsbuffers die een product met voldoende stabiliteit zouden opleveren. Er werd prioriteit gegeven aan de verdere ontwikkeling van durvalumab-68oLT. Een stabiliteitsstudie tot 6 weken na productie werd uitgevoerd en liet zien dat een formulering van 50 mM natrium fosfaat buffer met natrium chloride op pH 7,0, met of zonder 0,02% polysorbaat 80 ter stabilisatie, een stabiel product opleverde. Durvalumab-68oLT hield tijdens deze stabiliteitsstudie een concentratie van 90 – 110% van de originele waarde, de onzuiverheden bleven onder de 3% en de binding met PD-L1 bleef intact. De data die in dit hoofdstuk worden weergegeven vormen de basis voor een uitgebreid stabiliteitsonderzoek op volledige productieschaal, in lijn met de roadmap uit hoofdstuk 4. Hierdoor zal durvalumab op korte termijn kunnen worden ingezet in klinisch onderzoek.

Het tweede veld waarin optische beeldvorming zou kunnen worden toegepast is bij ontstekingsziekte van het maag-darm kanaal (inflammatory bowel disease, IBD). Hoofdstuk 8 beschrijft de conjugatie van 4 antilichamen voor de behandeling van IBD (infiximab, vedolizumab, adalimumab en ustekinumab) aan 3 verschillende fluorescente dyes (IRDye 800CW, IRDye 680LT en ZW800-1) en de evaluatie van hun potentie als tracer voor IBD. De combinatie van infiximab met alle geteste dyes resulteerde in ontbinding van de eiwitstructuur, die daardoor niet meer intact was. Combinaties van antilichamen met ZW800-1 resulteerden in tracers die minder sterk fluoresceerden, minder intact antilichaam oprichtten uit productie en die vorming van eiwitfragmenten lieten zien. Van de 12 geteste tracer kandidaten werden er 5 gezien als geschikt voor verdere ontwikkeling en translatie: vedolizumab-800CW, vedolizumab-680LT, adalimumab-800CW, adalimumab-680LT en ustekinumab-800CW.

Van de 5 geschikte tracers uit hoofdstuk 8 is vedolizumab-800CW als eerste verder ontwikkeld en geproduceerd onder GMP condities (niet beschreven in dit proefschrift) voor gebruik in een klinische studie. Hoofdstuk 9 beschrijft de toepassing van vedolizumab-800CW in een klinische studie. Patiënten met IBD maar zonder eerdere blootstelling aan vedolizumab werden geïncludeerd in de studie. Patiënten kregen een dosis tracer van 0,0 mg (controlegroep), 4,5 mg, 15,0 mg of 15,0 mg voorafgegaan door een “blocking” dosis van 75,0 mg ongelabelde vedolizumab. In de voorlopige resultaten van de eerste 28 patiënten in de studie laten we zien dat fluorescent signaal van vedolizumab-800CW zichtbaar was in de mucosa van IBD patiënten tijdens endoscopie, en ook kon worden waargenomen in bipten genomen tijdens de procedure. Endoscopische fluorescente beeldvorming liet een diffuus signaal van lage intensiteit zien in de

mucosa met weinig contrast, maar tijdens de procedure waren intra-individuele verschillen in intensiteit tussen gezond en ontstoken weefsel wel duidelijk waarneembaar. De intrinsieke fluorescentie van het weefsel is daarnaast bepaald met MDSFR/SFF spectroscopie en liet een significante toename van het signaal zien gerelateerd aan een toenemende mate van ontsteking in het weefsel bij alle tracer doses behalve de controlegroep. Deze initiële rapportage van de studieresultaten kan worden uitgebreid met onder andere microscopische evaluatie van de bipten om de verdeling van vedolizumab-800CW op celniveau vast te stellen, en de celtypes die worden beïnvloed door vedolizumab te onderzoeken. De studie wordt daarnaast uitgebreid met nieuwe patiënten die al wel vedolizumab hebben gekregen als therapie, en patiënten die voor de start van therapie al tracer hebben gekregen en na meerdere therapeutische doseringen opnieuw worden geïncubeerd voor een extra endoscopie, om zo veranderingen in mucosale fluorescentie te onderzoeken. De correlatie tussen resultaten van de beeldvorming en klinische follow-up zal ook worden onderzocht. Deze data kunnen inzicht bieden in het mechanisme achter vedolizumab's farmacodynamiek, wat kan bijdragen aan een efficiëntere toepassing van vedolizumab in de toekomst.

BELANGRIJKSTE CONCLUSIES

Het veld van de optische beeldvorming staat, nu de technologie voor zowel detectie van het signaal in foto- en videobeeld en *in vivo* kwantificatie van het signaal verder verfijnd worden, op het punt om over te gaan naar een nieuwe fase. De tot nu toe onderzochte aspecten van de techniek kunnen het startpunt vormen voor nieuwe trials, die de waarde van optische beeldvorming in de praktijk kunnen aantonen. Op dit moment is er één antilichaam tracer waarvoor fase III klinisch onderzoek wordt uitgevoerd (3–5) en deze tracer zou het precedent kunnen vormen voor de toepassing van de techniek in de routine klinische zorg. Het uitvoeren van fase III onderzoek voor andere tracers en beeldvormingsapparatuur kan de ontwikkeling en integratie van de techniek verder ondersteunen. Echter, het is niet wenselijk dat meerdere vergelijkbare maar onafhankelijke technologieën in parallel worden gepresenteerd voordat de vergelijkbaarheid is onderzocht. De introductie van meerdere individuele platforms voor beeldvorming (in theorie ook allemaal met hun eigen, aan het platform verbonden tracer product) draagt een risico dat het onderzoeksveld wordt verdeeld in clusters, gegroepeerd rondom het systeem waarvoor die specifieke groep de keuze op is gevallen. Daarnaast zou deze verdeling ook kunnen zorgen voor het bemoeilijken van het laten instappen van nieuwe onderzoeksgroepen in optische beeldvorming, aangezien er dan voorafgaand aan het onderzoek al een keuze moet worden gemaakt welk systeem zal worden gebruikt voor experimenten tijdens de ontwikkeling. Dit gaat tevens de mogelijkheden om de techniek in meerdere centra of meerdere toepassingen te gebruiken tegen.

De verdere ontwikkeling binnen de optische beeldvorming zou moeten streven naar het genereren van gekwantificeerde signalen die kunnen worden uitgedrukt in objectieve eenheden, zodat een vergelijking kan worden gemaakt tussen dyes, tracers, devices en deelnemende centra. Een systeem zoals Standardized Uptake Values (SUV), wat gebruikt wordt voor PET, is hierin wenselijk. Dit aspect wordt reeds onderzocht in de vorm van het ontwikkelen van phantoms voor de kalibratie en vergelijking van de output van devices, en het formeren van een task group voor fluorescentie-geleide chirurgie, ondersteund door de American Association of Physicists in Medicine. (6–8) Dit kan de basis vormen voor een robuuste vergelijking van methoden en resultaten, en een gefocuste ontwikkeling van optimale tracers en afbeeldingssystemen voor verschillende toepassingen. De MDSFR/SFF technologie zou hier aan kunnen bijdragen door het genereren van objectieve fluorescente intensiteits-waarden, die eenvoudig vergeleken kunnen worden met metingen uit andere centra.

Optische beeldvorming kent een verscheidenheid aan potentiële toepassingen binnen de chirurgie, endoscopie en pathologie, en de achterliggende technologie heeft het benodigde niveau bereikt voor gebruik in een klinische setting. De focus moet komen te liggen op het uitvoeren van onderzoeken gericht op de uitkomst, gekoppeld aan de beelden of waarden uit optische beeldvorming en de standaardisering van detectie en evaluatie van het fluorescente signaal. Als de gebruikers dit nastreven kan de implementatie van optische beeldvorming als onderdeel van invasieve procedures en pathologische beoordeling van weefsel in de nabije toekomst worden bereikt. De adoptie van deze techniek kan waardevol zijn door het zichtbaar maken van contrast in aangedaan weefsel, het mogelijk maken van gericht nemen van biopten, het stroomlijnen van pathologische procedures en het visualiseren van de *in vivo* verdeling van geneesmiddelen. Deze toepassingen kunnen zorgen voor een vermindering van onvolledige resecties binnen de chirurgie, een verminderde werklust voor pathologische verwerking, en een verbetering van inzicht in het mechanisme van nieuwe geneesmiddelen. Nu dat zowel de nabij-infrarode tracers als de detectiemethoden uit de experimentele fase beginnen te groeien en zich richting de klinische setting begeven, ligt er een glansrijke toekomst voor de optische beeldvorming in het vooruitzicht.

REFERENTIES

1. Voskuil FJ, de Jongh SJ, Hooghiemstra WTR, Linssen MD, Steinkamp PJ, de Visscher SAHJ, et al. Fluorescence-guided imaging for resection margin evaluation in head and neck cancer patients using cetuximab-800CW: A quantitative dose-escalation study. *Theranostics*. 2020;10(9):3994–4005.
2. Vonk J, de Wit JG, Voskuil FJ, Tang YH, Hooghiemstra WT, Linssen MD, et al. Epidermal growth factor receptor targeted fluorescence molecular imaging for postoperative lymph node assessment in patients with oral cancer. *J Nucl Med*. 2021 Sep 16;jnumed.121.262530.
3. Meijer RPJ, de Valk KS, Deken MM, Boogerd LSF, Hoogstins CES, Bhairosingh SS, et al. Intraoperative detection of colorectal and pancreatic liver metastases using SGM-101, a fluorescent antibody targeting CEA. *Eur J Surg Oncol*. 2021 Mar;47(3):667–73.
4. Hoogstins CES, Boogerd LSF, Sibinga Mulder BG, Mieog JSD, Swijnenburg RJ, van de Velde CJH, et al. Image-Guided Surgery in Patients with Pancreatic Cancer: First Results of a Clinical Trial Using SGM-101, a Novel Carcinoembryonic Antigen-Targeting, Near-Infrared Fluorescent Agent. *Ann Surg Oncol*. 2018 Oct 26;25(11):3350–7.
5. Framery B, Gutowski M, Dumas K, Evrard A, Muller N, Dubois V, et al. Toxicity and pharmacokinetic profile of SGM-101, a fluorescent anti-CEA chimeric antibody for fluorescence imaging of tumors in patients. *Toxicol Reports*. 2019;6(April):409–15.
6. Anastasopoulou M, Koch M, Gorpas D, Karlas A, Klemm U, Garcia-Allende PB, et al. Comprehensive phantom for interventional fluorescence molecular imaging. *J Biomed Opt*. 2016 Jun 15;21(9):091309.
7. Liu Y, Ghassemi P, Depkon A, Iacono MI, Lin J, Mendoza G, et al. Biomimetic 3D-printed neurovascular phantoms for near-infrared fluorescence imaging. *Biomed Opt Express*. 2018;9(6):2810.
8. Pogue BW, Zhu TC, Ntziachristos V, Paulsen KD, Wilson BC, Pfefer J, et al. Fluorescence-guided surgery and intervention — An AAPM emerging technology blue paper. *Med Phys*. 2018;45(6):2681–8.

