

# VU Research Portal

## Brain tumors

Lagerweij, T.

2018

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Lagerweij, T. (2018). *Brain tumors: preclinical imaging and novel therapies*.

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

### **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.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## SAMENVATTING

Er zijn vele vormen van kwaadaardige hersentumoren, zowel bij volwassenen als ook bij kinderen. Deze tumoren zijn vaak slecht te behandelen, onder andere omdat de

tumorcellen de hersenen infiltreren. Hierdoor zijn ze onbereikbaar voor de chirurg waardoor er na een operatie altijd tumorcellen achterblijven. Om deze achtergebleven tumorcellen te verwijderen, kan er gebruik gemaakt worden van chemotherapie en bestraling. Deze therapieën beschadigen echter ook vaak het omliggende hersenweefsel. Met name bij jonge kinderen kan bestraling daarom niet worden toegepast. Maar ook bij volwassenen zijn de behandelingsmethoden niet efficiënt en leiden ze vaak tot ernstige bijwerkingen. Eén van de factoren die de behandeling van hersentumoren bemoeilijkt, is de aanwezigheid van de bloed-hersen-barrière. Deze barrière voorkomt normaal gesproken dat schadelijke stoffen de hersenen bereiken. Bij de behandeling van hersentumoren voorkomen ze echter ook dat de geneesmiddelen de tumor bereiken. Hierdoor zijn hersentumoren vaak niet gevoelig voor behandeling met geneesmiddelen die wel bij andere tumoren effectief zijn gebleken.

In dit proefschrift testen we de mogelijkheid van ‘convection-enhanced delivery’ (CED) om geneesmiddelen toch bij de tumor te krijgen. CED wil zeggen dat je onder een lichte druk, het geneesmiddel direct in het tumorgebied injecteert. Met deze techniek hoeft het geneesmiddel dus niet in staat te zijn om zelfstandig over de bloed-hersen-barrière te gaan, maar wordt het geneesmiddel direct op de juiste locatie geïnjecteerd. Door deze manier van toedienen zijn de bijwerkingen vaak minder dan wanneer het geneesmiddelen via een infuus of als pil wordt toegediend.

Verder wordt in dit proefschrift een methode beschreven om de effecten van bestraling te versterken en we beschrijven hoe we een nieuw principe hebben gevonden dat we kunnen gebruiken om te voorkomen dat een tumor ongevoelig wordt voor behandeling met chemotherapeutica.

Voor al deze onderzoeken hebben we gebruik gemaakt van proefdiermodellen. Om te kunnen vaststellen of de therapie effectief was, hebben we gebruik gemaakt van beeldvormende technieken zoals bioluminescentie (waarbij we cellen voorzien hebben van een enzym uit een vuurvliegje zodat de tumor licht geeft), MRI, PET (injectie van radio-actieve signaalstoffen) en geavanceerde microscopische technieken.

In **hoofdstuk 2** beschrijven we de techniek om CED in de hersenstam van de muis te kunnen uitvoeren. Omdat deze hersenstam heel klein is, hebben we zelf een CED-catheter ontwikkeld. Deze catheter hebben we vervolgens gebruikt om de chemotherapie,

carmustine, toe te dienen in de hersenstamtumor. Eerst hebben we bepaald of de techniek veilig was. Dit hebben we gedaan door alleen het oplosmiddel toe te dienen. Nadat dit veilig was gebleken hebben we vervolgens carmustine toegediend. Het bleek dat dieren die met de CED-methode met carmustine waren behandeld langer in leven bleven dan de dieren die alleen het oplosmiddel toegediend hadden gekregen.

**Hoofdstuk 3** beschrijft vervolgens het gebruik van dezelfde CED-techniek om een ander geneesmiddel toe te dienen. In dit hoofdstuk wordt bepaald of de toediening van doxorubicine effectief is voor de behandeling van twee verschillende soorten hersentumoren die veel bij kinderen voorkomen, namelijk diffuus intrinsiek pons glioom (DIPG) welke in de hersenstam ontstaat en hoog-gradige gliomen (hGG) welke in de grote hersenen ontstaan. Eerst hebben we met behulp van een panel van geneesmiddelen bepaald voor welke behandelingen deze tumorcellen gevoelig zijn. Doxorubicine kwam uit deze testen naar voren als een geschikt geneesmiddel voor deze vormen van kanker. Doxorubicine kan toegediend worden als 'vrij-doxorubicine' -direct opgelost in het oplosmiddel- of in 'PEGylated liposomes' -hierbij zit het doxorubicine verpakt in liposomen, een soort kleine blaasjes. We toonden aan dat beide toedieningsvormen van doxorubicine zeer schadelijk waren wanneer het middel toegediend werd in de hersenstam. Wanneer dezelfde middelen werden toegediend in de grote hersenen, waren de bijwerkingen milder. Hierdoor kon er in de grote hersenen een 10x hogere dosis worden toegediend. Door deze schadelijke bijwerkingen was de effectiviteit van doxorubicine afwezig in de hersenstamtumoren en waren de gunstige effecten in hGG-tumoren in de grote hersenen zeer beperkt.

In **hoofdstuk 4** beschrijven we het gebruik van een PET-scan. Dit is een positron emitting tomography; je kunt hiermee zien waar een radioactieve signaalstof aanwezig is. We hebben deze techniek gebruikt om vast te stellen of bevacizumab, een geneesmiddel gericht tegen VEGF -een signaalstof waarmee de tumor zorgt dat er nieuwe bloedvaten worden gevormd-, aankomt bij de tumorcellen. We konden vaststellen dat de hoeveelheid VEGF die tumorcellen produceren afhankelijk is van de locatie waarin deze tumor zich bevindt. Hiervoor hadden we tumorcellen onderhuids geïnjecteerd, of dezelfde tumorcellen in de hersenen. De radioactieve signaalstof,  $^{89}\text{Zr}$ -bevacizumab, was aantoonbaar in de onderhuids geïnjecteerde tumoren, maar niet in de tumoren welke in de hersenen zaten. Vervolgens hebben we met een *in situ* hybridisatie techniek vastgesteld dat in de onderhuids geïnjecteerde tumoren het VEGF aanwezig was, maar dat in de tumoren in de hersenen dit VEGF niet geproduceerd werd. In deze experimenten hebben we gebruik gemaakt van diverse beeldvormende technieken zoals MRI om te zien of de bloed-hersen-barrière nog intact was en bioluminescentie om de tumorgroei te kunnen vaststellen.

In **hoofdstuk 5** hebben we van 960-verschillende stoffen getest of ze in staat zijn om de effecten van bestraling te versterken. Uit deze testen kwam de stof quercetine naar voren als een effectieve 'radiosensitizer'. Dit 'radiosensitizerende' effect werd bevestigd in een aantal andere cellijnen voor een kinderhersentumor: medulloblastoma cellijnen D283 en D458. Het bleek dat quercetine al in zeer lage concentraties in staat was om de cellen te sensibiliseren voor bestraling. Bovendien bleek dat quercetine geen invloed had op de celdeling van normale humane fibroblast cellen of neurale precursor cellen. Met behulp van een proefdiermodel, waarbij we menselijke medulloblastome tumorcellen in de hersenen van een muis hadden geïnjecteerd, hebben we vervolgens vastgesteld dat wanneer je quercetine toedient rondom het moment van bestraling, dit een versterking van het bestralingseffect geeft en de dieren langer blijven leven dan een controle groep die geen quercetine heeft gehad.

**Hoofdstuk 6** behandelt de rol van 'extracellular vesicles' (EVs). EVs zijn kleine blaasjes die door alle cellen worden uitgescheiden. Eerst tonen we aan dat glioblastoma EVs van de ene cel, kunnen worden opgenomen door een andere cel. Deze opname van EVs zorgt voor een toename van het aantal tumorcellen en dat de tumorcellen minder gevoelig worden voor behandeling met temozolomide chemotherapie. Vervolgens hebben we een RNAi screenings techniek gebruikt om te bepalen via welke receptoren de tumorcellen EVs kunnen binden. Uit deze screenings techniek kwam het chemokine CCR8 naar voren als een effectieve receptor voor EVs. We hebben vastgesteld dat deze binding van EVs verloopt via een drie-staps interactie tussen het CCR8 op de tumorcellen, glycanen op de EVs en het chemokine CCL18 wat uitgescheiden wordt door de tumorcellen en hun omgeving. Deze interactie kan worden geremd met een stof genaamd R243. Dit is een 'small-molecule inhibitor' van CCR8. Wanneer we R243 toedienden in combinatie met temozolomide in een muismodel werd voorkomen dat de tumor ongevoelig werd voor temozolomide behandeling en leefden de dieren langer dan wanneer ze maar één van de middelen toegediend kregen.

In **hoofdstuk 7** beschrijven we het gebruik van doorzichtig weefsel om de topografische relatie tussen tumorcellen en hun omgeving te bestuderen. We presenteren eerst een schema waarbij we weefsels doorzichtig kunnen maken, structuren kunnen bestuderen met behulp van geavanceerde microscopische technieken en de verschillende structuren kunnen detecteren met behulp van computermodellen. Deze proefopzet hebben we gebruikt om de afstand tussen tumorcellen en bloedvaten te kunnen meten in verschillende delen van de hersenen, namelijk de witte- en de grijze stof gebieden. Ook hebben we met deze techniek kunnen bevestigen dat glioblastoma tumorcellen voor hun migratie door de hersenen gebruik maken van de bloedvaten en de witte stof banen. Ook hebben we waargenomen dat er groepen van onderling met elkaar verbonden glioblastoma cellen aanwezig zijn.

In **hoofdstuk 8** bespreken we de resultaten van de studies uit dit proefschrift en de relevantie van proefdiermodellen en beeldvormende technieken in het veld van hersentumor onderzoek. De verkregen inzichten en technieken vormen een mooi startpunt voor nieuwe onderzoeksprojecten gericht op de verbetering van de behandeling van hersentumor patiënten.