

UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Benign liver tumours

A patient tailored approach

van Rosmalen, B.V.

Publication date

2022

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

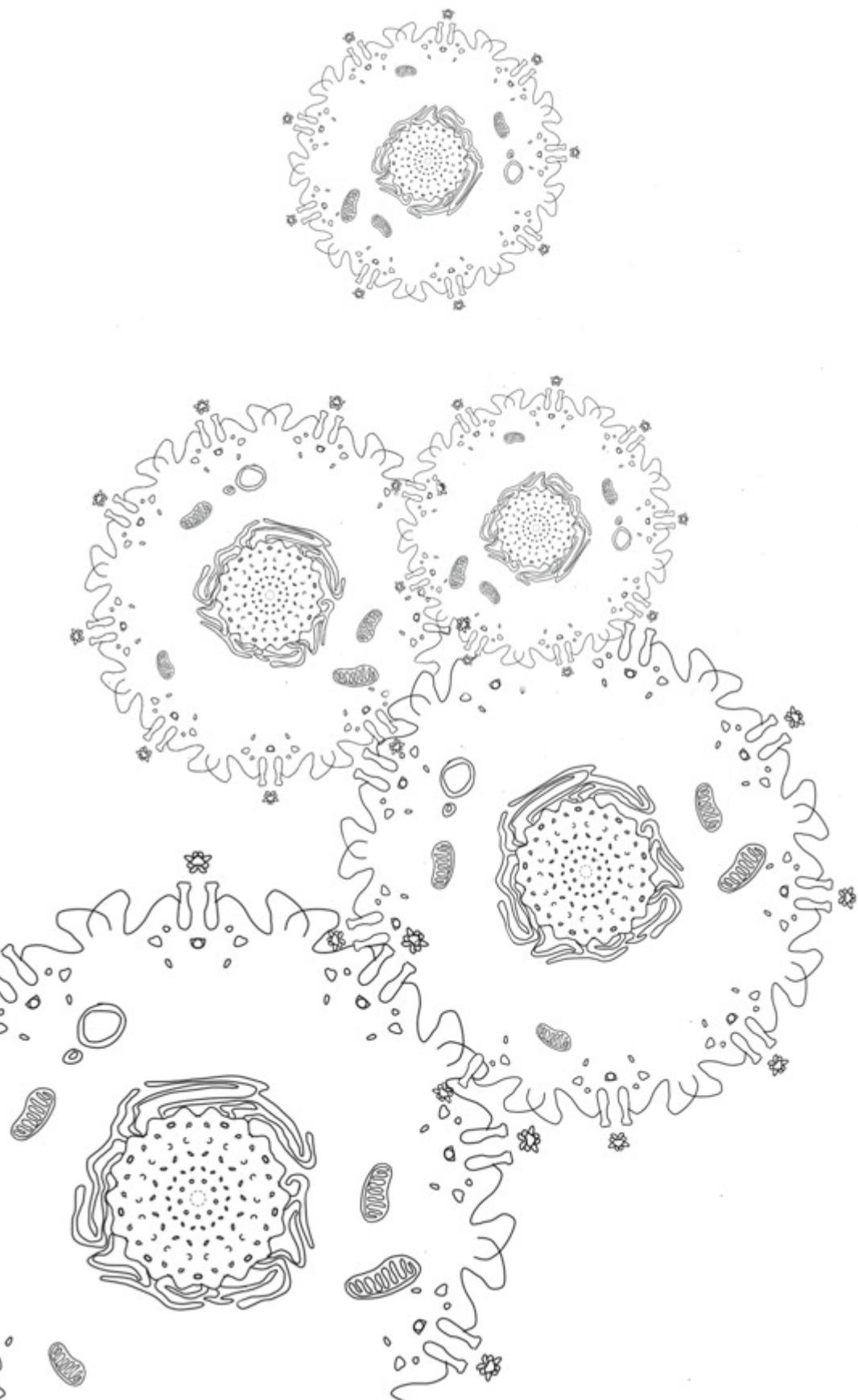
van Rosmalen, B. V. (2022). *Benign liver tumours: A patient tailored approach*.

General rights

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), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.



Appendices

Discussion and future perspectives

English summary

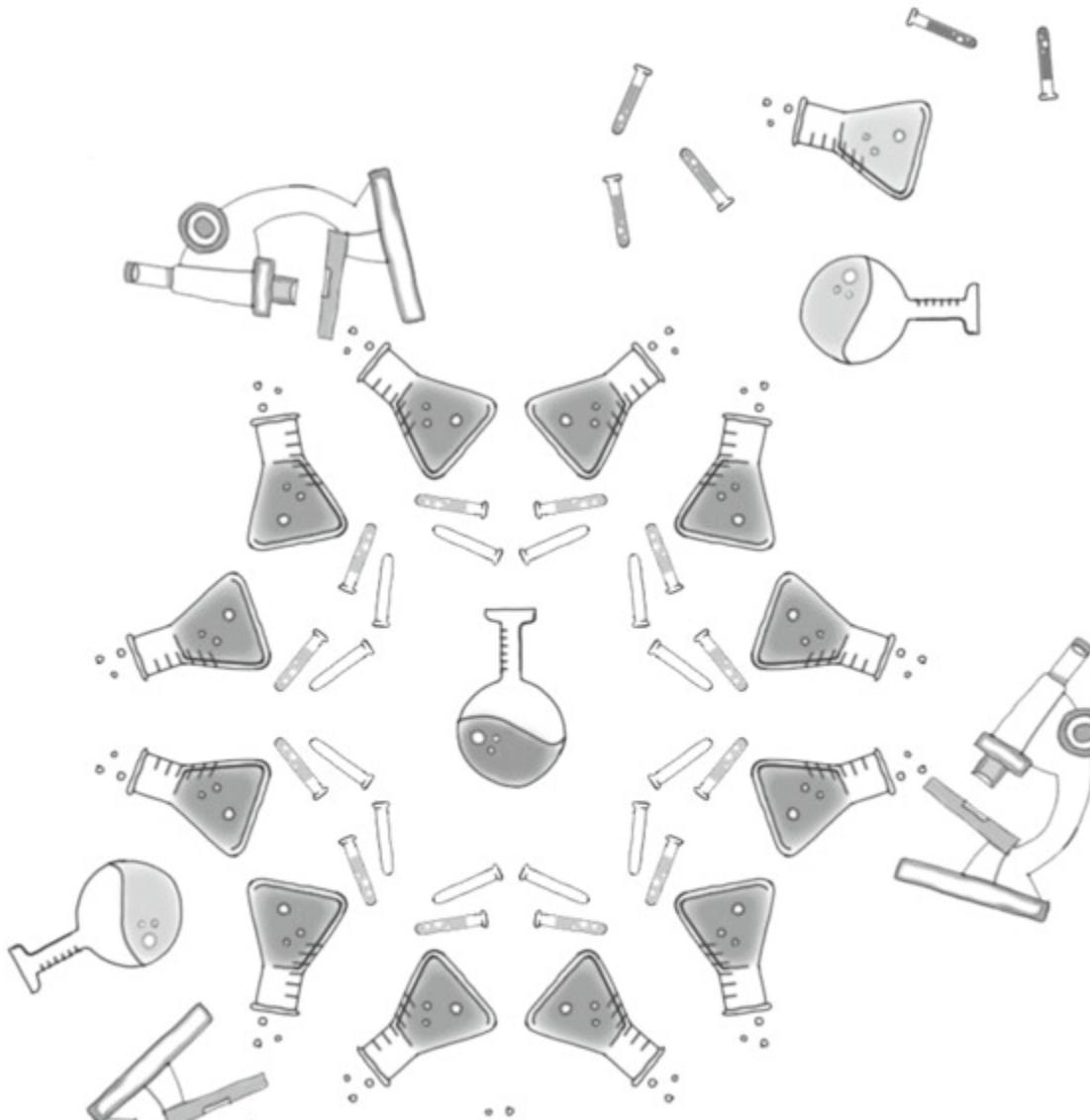
Nederlandse samenvatting

PhD portfolio

List of Publications

Curriculum Vitae

Dankwoord / Words of thanks and appreciation



Discussion

Focal liver lesions are increasingly being diagnosed, often found as incidentalomas on imaging performed for unrelated causes. Determining their type, and in cases of hepatocellular adenoma (HCA) their molecular subtype, is important as some are at risk of bleeding or malignant transformation, while other focal liver lesions do not require treatment or clinical follow-up. The balance between over- and under-treating HCA is delicate, considering the morbidity and mortality of liver surgery.

The landscape of benign liver tumours has drastically changed over the past decade. Yet, in some clinical situations we have still not reached consensus on whether surgical treatment should be performed, or whether a wait-and-see policy is justified. Whether to perform a biopsy or not, is also still a matter of debate. This thesis has explored different areas of innovation and their impact on the management of patients with benign liver tumours, to provide a patient-tailored approach.

A “French revolution” started in 2002 when study groups in Paris and Bordeaux started to discover different molecular subtypes of HCA. It began with the identification of a deletion in the 12q24 region including the gene TCF1 (transcription factor 1), encoding hepatocyte nuclear factor 1.¹ In 2006 four molecular subgroups were defined (i.e. HNF1 α inactivated HCA (H-HCA), β -catenin activated HCA (β -HCA), (inflammatory I-HCA and unclassified U-HCA),² and in 2017 the Sonic hedgehog HCA (shHCA) was discovered.³ Since then, determining the molecular subtype has become common practice in dedicated centres, as we have learned that malignant transformation or bleeding rarely occurs in H-HCA, while β -HCA have a 9.3-fold higher chance of malignant transformation as compared to the other subtypes.³,⁴ Knowing the HCA subtype beforehand, would aid patient selection for surgical treatment. This especially applies to the β -HCA and the shHCA subtype because they cannot be distinguished using Gd-EOB-DTPA-MRI and carry a high risk of malignant transformation and bleeding, respectively.^{2, 5, 6} Recently a prediction model was developed which can be used to predict size regression of HCA > 5 cm. U-HCAs and I-HCA had higher chance of regression below 5 cm as compared to H-HCA, and thus these subtypes may justify a longer clinical follow-up and delay of surgery.⁷ Future studies should point out whether H-HCA, a subtype with low risk of malignant transformation and bleeding, if larger than 5 cm, can also be managed with a longer wait and see approach.

A comparative analysis of glutamine synthetase (GS) immunohistochemical staining patterns with molecular data showed sensitivity > 80 percent and specificity > 90

percent for identifying β -HCA. This is a budget-friendly and effective method to identify β -HCA. Samples used in this study, however, were mainly resection specimens.^{8, 9} Although costly, next generation sequencing (NGS) might be a helpful tool to identify β -HCA at biopsies, when immunohistochemistry remains inconclusive. Nevertheless, one must stay aware of the pitfalls, as sampling error may still compromise clinical decision making. In this thesis we show the additional value of next generation sequencing (NGS) in HCA, identifying *CTNNB1* mutations (encoding for β -catenin) that even after expert revision of the slides, including the relevant stainings (according to the EASL guideline 2016)¹⁰ by two expert pathologists, could not be subtyped without NGS.⁹ In this cohort of male HCA patients, an interesting subgroup emerged of patients without characteristics of increased risk, such as malignant degeneration or β -catenin mutations, with indeed, low recurrence and mortality during clinical follow-up. In a response to our study, Mauro E. *et al.*,¹¹ proposed a new treatment algorithm, opposing the current EASL guidelines that advise resection of every HCA in male patients. Biopsy is their first step, followed by expert revision including immunohistochemistry and NGS, and reserving resection for β -HCA only. If *CTNNB1* mutations are ruled out, a similar approach is suggested as currently described for female patients in the EASL guidelines 2016; lifestyle changes, close follow-up every six months, and only when tumour size >5 cm persists after 6 months, surgical resection is advised.^{10, 11}

Magnetic resonance imaging (MRI) combined with gadoxetic acid (Gd-EOB-DTPA) introduced around 2010 has significantly improved diagnostics, with a sensitivity ranging from (91% - 100%) and a specificity ranging from (87% - 100%) for differentiating the hyperintense focal nodular hyperplasia (FNH) from the usually hypointense hepatocellular adenoma (HCA) in the hepatobiliary phase.¹² Although less commonly used in clinical practice, ¹⁸F-fluoromethylcholine (FCH) PET/CT is reported to have a 100% sensitivity and 97% specificity.¹³ Despite promising results, one must stay aware of the pitfalls associated with these techniques, as hyperintense HCA on Gd-EOB-DTPA-MRI do sometimes occur and are difficult to differentiate from FNH, potentially leading to undertreatment of some HCA.¹² In this thesis we demonstrated a correlation between the uptake of Gd-EOB-DTPA in hepatocytes, and the expression of the organic anion transporter OATP1B3. This correlation highlights the *in vivo* role of OATP1B3 expression in signal intensity and hence strongly suggests that OATP1B3 is the key transporter for *in vivo* handling of Gd-EOB-DTPA.

The expression of this transporter varies between HCA subtypes. It appears to be downregulated in hypointense tumours and is preserved in HCA with an atypical hyperintense appearance on MRI- Gd-EOB-DTPA in the hepatobiliary phase.¹⁴ This

Appendices

may be the leading cause of misdiagnosis, when hyperintense HCA are mistaken for FNH. Nevertheless, non-invasive molecular subtyping of HCA based on specific imaging characteristics using Gd-EOB-DTPA MRI is gaining popularity. Some studies claim that HNF-1 α inactivated (H-HCA) and inflammatory (I-HCA) can reliably be identified using Gd-EOB-DTPA MRI, although these findings need further clinical confirmation.^{15, 16}

Surgical treatment has evolved as well, slowly moving towards a less invasive approach. When the EASL guideline in 2016 was issued, observation including life-style interventions and cessation of oral contraceptives to reduce tumour size was officially recommended for the first time. This reduced over-treatment of HCA. Recently, laparoscopic and robotic liver resection for benign liver tumours have been reported, although series are still small.¹⁷ This trend in minimalism continues, as transarterial embolization of HCA has shown promising results, shrinking tumours with little side-effects.¹⁸ Surgical resection for haemangioma is rarely needed as malignant transformation does not occur. However, giant haemangiomas may cause serious issues by compressing surrounding tissues. Most giant haemangiomas are too large for laparoscopic resection, and the cavernous blood-rich tissue tends to bleed easily increasing surgical risk. Till date haemangiomas are often treated with open surgical resection, but as addressed in this thesis, transarterial (chemo) embolization is a useful minimally invasive alternative.¹⁹

The importance of shared decision making is increasingly being recognized. It needs to be considered that, despite the improvements in imaging and molecular diagnostics, there are still cases in which the indication for surgery is up for debate. Patients should participate in this debate while being provided with the essential information to make a choice. Quality of life data (QoL) of the various treatment options is therefore essential. We found that abdominal complaints occurred less in surgically treated patients as compared to conservatively managed patients. This effect persisted up till 7 years after surgery and perhaps beyond. We could not find a difference in QoL between patients treated with laparoscopic versus open surgery for solid benign liver tumours, as our cohort was too small and cross-sectional. To this end, the BELIVER study was initiated, a national prospective cohort, gathering data on treatment outcomes and quality of life of all Dutch patients diagnosed with benign liver tumours.

Future perspectives

We are moving towards a less-invasive future in the management of HCA, using less invasive techniques, such as laparoscopic surgery and transarterial embolization, selecting patients for conservative management, and involving them in their own clinical management using shared decision making. Molecular subtyping of HCA has become increasingly important for risks stratification (in terms of malignant transformation and bleeding) and could aid in patient selection for surgery tremendously. It may in the future also have implications for length of follow-up. NGS has shown additional value in identifying β -HCA, while the relevance/malignant risk of exon 7/8 mutations needs to be further investigated. Molecular subtyping based on Gd-EOB-DTPA MRI is gaining popularity, but has pitfalls which are yet to be overcome, mostly consisting of lack of specificity in tumours that are hyperintense in the hepatobiliary phase, and the inability to identify β -HCA and shHCA. Although biopsy is not the standard of care yet according to the current EASL guidelines, it may deserve a more prominent role in the future for patient-tailored treatment.

Considering the rarity of benign liver tumours and the plethora of treatment options, the expertise of liver surgeons, hepatologists, radiologists, and pathologists in a dedicated multidisciplinary team (MDT) is necessary when deciding upon treatment as stated in the EASL guidelines. Future research should pursue (inter) national collaborations to resolve the unanswered questions by increasing sample size, facilitating scientific exchange between multidisciplinary teams, eventually leading to a more patient-tailored approach.

References

1. Bluteau, O., et al., Bi-allelic inactivation of TCF1 in hepatic adenomas. 2002. 32(2): p. 312-5.
2. Zucman-Rossi, J., et al., Genotype-phenotype correlation in hepatocellular adenoma: new classification and relationship with HCC. 2006. 43(3): p. 515-24.
3. Nault, J.C., et al., Molecular Classification of Hepatocellular Adenoma Associates With Risk Factors, Bleeding, and Malignant Transformation. *Gastroenterology*, 2017. 152(4): p. 880-94.e6.
4. Védie, A.L., et al., Molecular classification of hepatocellular adenomas: impact on clinical practice. *Hepat Oncol*, 2018. 5(1): p. Hep04.
5. Nault, J.-C., et al., Molecular classification of hepatocellular adenoma associates with risk factors, bleeding, and malignant transformation. 2017. 152(4): p. 880-94. e6.
6. Stoot, J.H., et al., Malignant transformation of hepatocellular adenomas into hepatocellular carcinomas: a systematic review including more than 1600 adenoma cases. *HPB (Oxford)*, 2010. 12(8): p. 509-22.
7. Klompenhouwer, A.J., et al., Development and Validation of a Model to Predict Regression of Large Size Hepatocellular Adenoma. *Am J Gastroenterol*, 2019. 114(8): p. 1292-8.
8. Sempoux, C., et al., Predictive Patterns of Glutamine Synthetase Immunohistochemical Staining in CTNNB1-mutated Hepatocellular Adenomas. *Am J Surg Pathol*, 2021. 45(4): p. 477-87.
9. van Rosmalen, B.V., et al., Hepatocellular adenoma in men: A nationwide assessment of pathology and correlation with clinical course. *Liver Int*, 2021. 41(10): p. 2474-84.
10. EASL Clinical Practice Guidelines on the management of benign liver tumours. *J Hepatol*, 2016. 65(2): p. 386-98.
11. Mauro, E. and A. Forner, Hepatocellular adenoma in men: Is it time for a precision approach? *Liver Int*, 2021. 41(10): p. 2246-8.
12. McInnes, M.D., et al., Focal Nodular Hyperplasia and Hepatocellular Adenoma: Accuracy of Gadoxetic Acid-enhanced MR Imaging--A Systematic Review. *Radiology*, 2015. 277(2): p. 413-23.
13. Bieze, M., et al., The use of 18F-fluoromethylcholine PET/CT in differentiating focal nodular hyperplasia from hepatocellular adenoma: a prospective study of diagnostic accuracy. *Nucl Med Commun*, 2013. 34(2): p. 146-54.
14. Sciarra, A., et al., OATPB1/B3 and MRP3 expression in hepatocellular adenoma predicts Gd-EOB-DTPA uptake and correlates with risk of malignancy. *Liver Int*, 2019. 39(1): p. 158-67.
15. van Aalten, S.M., et al., Hepatocellular adenomas: correlation of MR imaging findings with pathologic subtype classification. *Radiology*, 2011. 261(1): p. 172-81.
16. Ronot, M., et al., Hepatocellular adenomas: accuracy of magnetic resonance imaging and liver biopsy in subtype classification. *Hepatology*, 2011. 53(4): p. 1182-91.
17. Camerlo, A., H. Seux, and F. Portier, Robotic right hepatectomy for giant hepatocellular adenoma - With video. *Surg Oncol*, 2021. 39: p. 101640.
18. van Rosmalen, B.V., et al., Systematic review of transarterial embolization for hepatocellular adenomas. *Br J Surg*, 2017. 104(7): p. 823-35.
19. Furumaya, A., et al., Transarterial (Chemo-)Embolization and Lipiodolization for Hepatic Haemangioma. *Cardiovasc Interv Radiol*, 2019. 42(6): p. 800-11.

English summary

This thesis has investigated three different areas in the management of benign liver tumours:

Part 1 focussed on clinical outcomes and quality of life after liver surgery and conservative treatment. **Part 2** investigated interventional radiological techniques, and their potential as a non-invasive alternative to surgery for both solid and cystic benign liver tumours. **Part 3** describes diagnostics of benign liver tumours in men, including a risk inventory based on histopathology, next generation sequencing (NGS) in relation to clinical follow-up. Furthermore, it investigated the pitfalls of contrast enhanced MRI, related to the expression of organic anion and cation hepatocyte transporters.

The overall aim was to evaluate the current treatment status of benign liver tumours, in order to suggest improvements of the multidisciplinary, evidence-based treatment strategies.

Part I

Quality of life and clinical outcomes

Although benign liver tumours are occasionally resected for alleged symptoms, the presence of symptoms as the sole indication for surgery is heavily debated, considering the morbidity and mortality after liver surgery, and uncertain relief of symptoms.

In chapter 2 we performed a cross-sectional cohort study, investigating long term outcomes of quality of life after liver resection in patients with benign liver tumours. Using the validated McGill Pain Questionnaire and VAS scores, we assessed pain and quality of life before surgery, and approximately 5 years after surgery. Symptoms were relieved in most patients, and this effect sustained for at least 54 months of follow-up. The postoperative scar was the most common reason for complaints after surgery, caused by incisional hernias and unwanted cosmetic outcomes.

Chapter 3 is a multicentre retrospective cohort study, that included patients who underwent liver surgery, with residual HCA in their remnant liver after surgery. We studied growth of residual HCA using the RECIST criteria. Most HCA remained stable, a quarter of the lesions showed regression and in approximately ten percent of the patients, at least one lesion showed growth. Four patients out of 134 patients

Appendices

(3%) required an intervention, due to progressive growth of their lesions. We could not identify factors predicting in which individuals residual HCA would grow. Although interventions were rarely necessary, growth was not uncommon. Surveillance is therefore recommended, enabling timely intervention.

In **chapter 4** we investigated the value of open and laparoscopic liver surgery for benign liver tumours, through a systematic review reporting on symptom relief, quality of life (QoL) and surgical outcomes. The search was performed according to the PRISMA guidelines and methodological quality was assessed using the MINORS tool; 3536 (87%) open and 525 (13%) laparoscopic resections were identified. Surprisingly, symptoms were the main reason to perform resection, and were relieved in 82 percent of the patients. These results clearly indicated a positive effect of surgery, but a comparison with conservative treatment was lacking in most studies. Also, a head-to-head comparison of open versus laparoscopic surgery was impossible due to lack of separately reported outcomes. The need for proper control groups and a head-to-head comparison identified in this review, laid the foundation for the CONSULT (**chapter 5**) and BELIVER (**chapter 6**) studies.

The CONSULT study uses a cross-sectional propensity score matched design and is the first of its kind that compares conservative management of benign liver tumours with surgical management. SumScores and general QoL scores were measured using EORTC QLQ-C30 IL-33 module, supplemented with a Visual Analogue Scale (VAS)-score. Patients were matched by age, gender, tumour size, number of tumours (single) and location of the largest tumour (left or right hemi-liver). Surgically treated patients had a significant increase in SumScores (indicating better QoL), whereas conservatively treated patients did not, despite a significant decrease in tumour size. Interestingly, older patients with symptoms had significantly less symptom relief after a conservative treatment as compared to younger patients. This implies that surgery to relieve complaints should be considered sooner in older patients, while younger patients still have a chance to become asymptomatic with a wait-and-see approach.

BELIVER is a national collaboration in which all the academic hospitals of the Netherlands participate. It investigates the natural course, clinical outcomes, and quality of life of patients with benign liver tumours and cysts. Patients are included prospectively. The study is open for inclusion and will close in 2025. Quality of life is monitored over time using computerized adaptive testing through the Patient-Reported Outcomes Measurement Information System (PROMIS), minimizing patient burden. Patients are not randomised and decide upon treatment together with their

physician. The primary outcome is QoL, before and after different interventions or conservative management. Secondary outcomes are morbidity and mortality.

Part II

Minimally invasive, interventional radiological techniques

Some benign liver tumours (both solid and cystic) are not, or at very low risk for malignant transformation. Yet, they may cause complaints due to their size by compressing surrounding tissues or impose a risk of bleeding. Minimally invasive management, aiming to reduce complaints by reducing tumour size in these patients has an obvious upside potential.

Chapter 7 is a systematic review, including 20 cohort studies and 20 case reports, summarizing the data of 151 patients with HCA undergoing transarterial embolization (TAE). It reports safety and efficacy data for both bleeding and non-bleeding HCA. Changes in tumour size were scored according to the RECIST criteria. Complications were scored according to the Society of Interventional Radiology Classification System for Complications by Outcome. Tumours shrunk or disappeared in most patients (85%). Complications occurred in eight patients (postembolisation syndrome and renal failure) but were transient. No morbidity was observed.

Chapter 8 uses the same methodology as chapter seven, but reports safety, efficacy and QoL outcomes of transarterial (chemo-)embolization and lipiodolization (TAE/TAL) for hepatic haemangiomas. Tumour size decreased in 1100/1223 (89.9%) patients after TAE/TAL and symptoms improved or disappeared in 1080/1096 (98.5%) patients. Complications rarely occurred, and only 2.7% of the patients still needed surgery in the future.

Chapter 9 compares outcomes of QoL, safety and efficacy after laparoscopic cyst deroofing versus open surgical management or percutaneous aspiration and sclerotherapy (PAS) for symptomatic simple hepatic cysts (SHC). The same methodology is used as in chapter seven and eight. 736 patients were included. PAS showed excellent results: symptoms resolved in all except 3.5% of the patients, versus 2.1 % using laparoscopic deroofing and 4.2 using open surgery. Complication and recurrence rates were lowest in the PAS group (<1%). It is concluded that PAS is the safest and most effective treatment method regarding recurrences. It is also highly effective to treat symptoms. For the small number of patients with persisting symptoms, a stepwise approach could be considered, reserving laparoscopic deroofing after one or two sessions of PAS.

Chapter 10 describes the first Dutch, multicentre cohort study on safety and efficacy of transarterial embolization of hepatocellular adenomas. Efficacy results were promising, and in line with the results found in chapter 7. Safety results were also comparable, although this study also identified patients who suffered from liver abscesses and sepsis post-TAE. No patients died because of the TAE procedure.

Part III

Diagnostics and risk stratification on a cellular and molecular level

HCA have different pathomolecular subtypes that vary in risk of malignant transformation and bleeding. Part III focusses on risk stratification through diagnostic work-up, in the field of pathology and radiology. It includes histopathological analysis with expert revision, immunohistochemical subtyping and next generation sequencing (NGS). Also it describes the latest radiological imaging techniques: the relation of patterns on Positron emission tomography (PET) combined with [¹⁸F] fluoromethylcholine (FCH) and MRI with Gd-EOB-DTPA are studied in their relation to the expression of organic cation and organic anion transporters in liver lesions.

HCA is a rare entity in male patients, and according to literature, associated with a higher chance of malignant transformation as β -catenin mutated HCA are more frequently observed in this population. The EASL guidelines dictate that resection for all male HCA patients is indicated. In **Chapter 11** we collected paraffine embedded material from all male patients with the differential diagnosis of HCA in the Netherlands, diagnosed between the year 2000 and 2017. Histology and immunohistochemistry were revised and/ or performed (if not done at first diagnosis) by two expert hepatopathologists according to the current guidelines. To confirm HCA subtype or HCC diagnosis, NGS was performed. Diagnosis changed after expert revision and NGS in 33 of the 66 patients (50%). Four β -catenin mutated HCA were newly identified using NGS during expert revision, which were not identified with immunohistochemistry. After expert histopathological revision, including immunohistochemistry and NGS in relation to clinical follow up (where available), three groups emerged (indisputable HCA, HCA/HCC and HCC). Tumour related mortality was different in these subgroups: 1/18 (5.6%) in HCA, 5/14 (35.7%) in uncertain HCA/ HCC and 4/9 (44.4%) in the HCC groups ($P = .031$). This underlines the importance of expert revision in male HCA patients, the use of relevant immunohistochemistry and NGS in case of uncertainty, to aid in the challenging, yet prognostically relevant distinction between HCA and well differentiated HCC.

In **Chapter 12** we aimed to identify the carriers that mediate the uptake of FCH in hepatocytes. Intrahepatic signal distribution patterns of patients with FNH, HCA and HCC on PET FCH were correlated to the expression patterns of organic cation transporters (OCTs). Expression patterns were assessed using RT PCR and Western blotting. In three patients with HCA, the FCH PET signal intensity was reduced relative to normal liver. This correlated with the simultaneous downregulation of OCT1 and OCT3 mRNA. In another patient with HCA, lesion and surrounding tissue did not show a difference in signal, coinciding with simultaneous downregulation of OCT1 and upregulation of OCT3. *In vitro*, we could demonstrate that OCT1 and OCT3 mediate transport of FCH. Together, these findings provide a proof of concept that OCT1 is a credible biologic variable in the accumulation of FCH in intrahepatic lesions.

Chapter 13 explores the underlying transport mechanisms (organic anion uptake and efflux transporters, OATP1B1, OATP1B3, MRP2 and MRP3), potentially causing lack of specificity and misdiagnosis of atypical HCA that appear hyperintense in the hepatobiliary phase of MRI with Gd-EOB-DTPA. Also, this is the first study describing the role of the farnesoid X receptor (FXR) pathway in benign liver tumours, which is involved in homeostasis of lipids and bile acids, and regulation of above-described organic anion transporters. If hyperintense, an HCA is often mistaken for an FNH. We found that lower levels OATP1B3 correlated to hypointensity of the tumour, respective to surrounding liver tissue. All H-HCA and 20 out of 22 I-HCA included in this study were hypointense, which corresponded with a downregulation of OATP1B1, OATP1B3 and multi drug resistance-associated protein (MRP) 2 in H-HCA, and a downregulation of OATP1B3 in I-HCA. The two atypical hyperintense I-HCA showed the highest upregulation of OATP1B3, suggesting that OATP1B3 expression is a major *in vivo* determinant of Gd-EOB-DTPA uptake in HCA. We also showed that the FXR pathway correlated with the expression of OATP1B3, hence the relative MRI signal and Gd-EOB-DTPA accumulation.

Nederlandse samenvatting

In dit proefschrift zijn drie verschillende deelgebieden in de behandeling van goedaardige levertumoren onderzocht:

Deel 1 richtte zich op klinische uitkomsten en kwaliteit van leven na leverchirurgie en conservatieve behandeling. In **deel 2** worden interventieradiologische technieken onderzocht, en hun potentieel als niet-invasief alternatief voor chirurgie voor zowel solide als cysteuze goedaardige levertumoren. **Deel 3** beschrijft de diagnostiek van goedaardige levertumoren, inclusief een risico-inventarisatie op basis van histopathologie en next generation sequencing. Verder worden de valkuilen in contrast versterkte MRI onderzocht, gerelateerd aan de expressie van organische anionen en kationen hepatocyt transporters.

Het overkoepelende doel van dit proefschrift was de huidige status van de behandeling van goedaardige levertumoren te evalueren, om zo suggesties te kunnen maken ter verbetering van de multidisciplinaire, evidence-based, behandelstrategie:

Deel I

Kwaliteit van leven en klinische uitkomsten

Hoewel goedaardige levertumoren incidenteel worden geresceerd vanwege vermeende symptomen, is de aanwezigheid van symptomen als enige indicatie voor chirurgie omstreden, gezien de morbiditeit en mortaliteit na leverchirurgie.

In **hoofdstuk 2** hebben wij een cross-sectionele cohortstudie uitgevoerd waarin wij de lange termijn kwaliteit van leven na leverresectie onderzochten bij patiënten met goedaardige levertumoren. Met behulp van de gevalideerde McGill Pain Questionnaire en VAS scores, hebben we pijn en kwaliteit van leven beoordeeld voor de operatie, en ongeveer vijf jaar na de operatie. Bij de meeste patiënten waren de symptomen verlicht, en dit effect hield minstens 54 maanden tot na de operatie aan. Het operatielitteken was de meest voorkomende reden voor klachten na de operatie, veroorzaakt door littekenbreuken en ongewenste cosmetische uitkomsten.

Hoofdstuk 3 is een multicentrisch retrospectieve cohortstudie, welke patiënten includeerde met multipele HCA, die een leveroperatie hadden ondergaan waarbij er resterende HCA's in hun lever achter bleven na de operatie. Wij onderzochten de groei van de residuele HCA met behulp van de RECIST-criteria. De meeste HCA waren stabiel, een kwart van de laesies vertoonde regressie en bij ongeveer tien

procent van de patiënten vertoonde ten minste één laesie groei. Vier patiënten (3%) ondergingen een ingreep wegens progressieve groei van hun laesies. Wij konden geen factoren identificeren die voorspelden bij welke individuen de resterende HCA's zouden groeien. Hoewel ingrepen zelden nodig waren, was groei niet ongewoon. Surveillance wordt daarom aanbevolen, zodat tijdig kan worden ingegrepen.

In **hoofdstuk 4** onderzochten wij de waarde van open en laparoscopische leverchirurgie voor goedaardige levertumoren door middel van een systematische review die rapporteerde over symptoomverlichting, kwaliteit van leven (QoL) en chirurgische uitkomsten. De zoekactie werd uitgevoerd volgens de PRISMA-richtlijnen en de methodologische kwaliteit werd beoordeeld met de MINORS-tool. Er werden 3536 (87%) open en 525 (13%) laparoscopische resecties geïdentificeerd. Verrassend genoeg waren de symptomen de voornaamste reden om een resectie uit te voeren, en werden deze bij 82% van de patiënten verlicht. Deze resultaten wezen duidelijk op een positief effect van chirurgie, maar een vergelijking met conservatieve behandeling ontbrak in de meeste studies. Ook was een vergelijking van open versus laparoscopische chirurgie onmogelijk door het ontbreken van afzonderlijk gerapporteerde uitkomsten. De behoefte aan goede controlegroepen en een head-to-head vergelijking die in deze review naar voren kwam, legde de basis voor de CONSULT (**hoofdstuk 5**) en BELIVER (**hoofdstuk 6**) studie.

De **CONSULT** studie heeft een cross-sectionele, propensity score matched opzet en is de eerste in zijn soort die conservatieve behandeling van goedaardige levertumoren vergelijkt met chirurgische behandeling. SumScores en algemene QoL-scores werden gemeten met behulp van de EORTC QLQ-C30 IL-33 module, aangevuld met een Visual Analogue Scale (VAS)-score. Patiënten werden gematched op leeftijd, geslacht, tumorgrootte, aantal tumoren en locatie van de grootste tumor (linker of rechter hemi-lever). Chirurgisch behandelde patiënten hadden een significante toename in SumScores (wat duidt op een betere QoL), terwijl conservatief behandelde patiënten dat niet hadden, ondanks een significante afname in tumorgrootte. Interessant is dat oudere patiënten met symptomen significant minder symptoomverlichting hadden na een conservatieve behandeling in vergelijking met jongere patiënten. Dit impliceert dat chirurgie om klachten te verlichten eerder moet worden overwogen bij oudere patiënten, terwijl jongere patiënten nog een kans hebben om asymptomatisch te worden met een afwachtend beleid.

BELIVER is een landelijk samenwerkingsverband waarin alle academische ziekenhuizen van Nederland participeren. Het onderzoekt het natuurlijke beloop, de klinische uitkomsten en de kwaliteit van leven van patiënten met goedaardige lever-

tumoren en cysten. Patiënten worden prospectief geïncludeerd. De studie is open voor inclusie en zal in 2025 worden afgesloten. De kwaliteit van leven wordt in de loop van de tijd gecontroleerd met behulp van geautomatiseerde adaptieve tests via het Patient-Reported Outcomes Measurement Information System (PROMIS), waardoor de belasting voor de patiënt tot een minimum wordt beperkt. Patiënten worden niet gerandomiseerd en beslissen samen met hun arts over de behandeling. Het primaire resultaat is de kwaliteit van leven, voor en na verschillende interventies of conservatief beleid. Secundaire uitkomsten zijn morbiditeit en mortaliteit.

Deel II

Minimaal invasieve, interventie-radiologische technieken

Sommige goedaardige levertumoren (zowel solide als cysteus) hebben geen of een zeer laag risico op kwaadaardige transformatie. Toch kunnen zij door hun grote klachten veroorzaken doordat zij omliggende weefsels verdrukken, of een risico op bloedingen vormen. Minimaal invasieve behandeling om grootte en zo klachten te verminderen bij deze patiënten heeft duidelijk potentie.

Hoofdstuk 7 is een systematische review waarin 20 cohortstudies en 20 case reports zijn opgenomen, die de gegevens samenvat van 151 patiënten met HCA die transarteriële embolisatie (TAE) ondergingen. Er wordt verslag gedaan van de veiligheids- en effectiviteitsgegevens voor zowel bloedende als niet-bloedende HCA. Veranderingen in tumorgrootte werden gescoord volgens de RECIST-criteria. Complicaties werden gescoord volgens het Society of Interventional Radiology Classification System for Complications by Outcome. De tumoren slonken of verdwenen bij de meeste patiënten (85%). Complicaties traden op bij acht patiënten (post-embolisatie syndroom en nierfalen) maar waren van voorbijgaande aard. Er werd geen morbiditeit waargenomen.

Hoofdstuk 8 maakt gebruik van dezelfde methodologie als hoofdstuk zeven, maar rapporteert veiligheid, effectiviteit en QoL uitkomsten van transarteriële (chemo-) embolisatie en lipiodolisatie (TAE/TAL) voor lever hemangiomen. De tumorgrootte nam af in 1100/1223 (89,9%) patiënten na TAE/TAL en de symptomen verbeterden of verdwenen in 1080/1096 (98,5%) patiënten. Complicaties traden zelden op, en slechts 2,7% van de patiënten had in de toekomst nog een operatie nodig.

Hoofdstuk 9 vergelijkt uitkomsten van QoL, veiligheid en werkzaamheid na laparoscopische deroofing van simpele levercystes (SHC) versus open chirurgische behandeling of percutane aspiratie en sclerotherapie (PAS). Dezelfde methodologie

is gebruikt als in hoofdstuk zeven en acht. 736 patiënten werden geïncludeerd. PAS liet uitstekende resultaten zien: de symptomen verdwenen bij alle patiënten op 3,5% van de patiënten na, tegenover 2,1% bij laparoscopische deroofing en 4,2% bij open chirurgie. De complicatie- en recidiefpercentages waren het laagst in de PAS-groep (<1%). Concluderend, PAS is de veiligste en meest effectieve behandelmethode met betrekking tot recidieven. Het is ook zeer effectief voor de behandeling van symptomen. Voor het kleine aantal patiënten met persisterende symptomen kan een stapsgewijze benadering worden overwogen, waarbij laparoscopische deroofing aan bod komt na een of twee sessies PAS.

Hoofdstuk 10 beschrijft de eerste Nederlandse, multicenter cohortstudie naar veiligheid en werkzaamheid van transarteriële embolisatie van hepatocellulaire adenomen. De effectiviteitsresultaten waren veelbelovend en waren in lijn met de resultaten gevonden in hoofdstuk 7. Ook de veiligheidsresultaten waren vergelijkbaar, hoewel in deze studie ook patiënten met leverabcessen en sepsis na TAE werden geïdentificeerd. Geen enkele patiënt overleed als gevolg van TAE.

Deel III

Diagnostiek en risicostratificatie op cellulair en moleculair niveau

HCA kennen verschillende moleculaire subtypes met verschillen in risico op maligne ontaarding en bloedingen. Deel III richt zich op risicostratificatie door diagnostische work-up, op het niveau van histopathologische analyse, next generation sequencing (NGS) en verschillende radiologische beeldvormingstechnieken. De relatie van patronen op Positron emissie tomografie (PET) gecombineerd met [18F]fluoromethylcholine (FCH) en MRI met Gd-EOB-DTPA werden bestudeerd in hun relatie tot de expressie van organische kation en organische anion hepatocyt transporters in leverlaesies.

HCA is een zeldzame entiteit bij mannelijke patiënten, en volgens de literatuur geassocieerd met een hogere kans op maligne transformatie door een over representatie van de β -cathenine mutatie in deze subgroep. Chirurgische resectie wordt voor alle mannen met een HCA aanbevolen in de EASL-richtlijn. In **hoofdstuk 11** verzamelden we paraffine ingebet materiaal van alle mannelijke patiënten met de differentiële diagnose van HCA in Nederland, gediagnosticeerd tussen het jaar 2000 en 2017. Histologie en immunohistochemie werden gereviseerd en/of vervaardigd (indien niet gedaan bij de eerste diagnose) door twee expert-hepatopathologen volgens de huidige richtlijnen. Om de diagnose HCA-subtype of HCC te bevestigen, werd NGS uitgevoerd. De diagnose veranderde na revisie door deskundigen en NGS

Appendices

bij 33 van de 66 patiënten (50%). Vier β-catenine gemuteerde HCA werden nieuw geïdentificeerd met NGS tijdens revisie door expert-hepatopathologen, die niet geïdentificeerd waren met immunohistochemie. Na histopathologische revisie door expert-hepatopathologen, inclusief immunohistochemie en NGS in relatie tot klinische follow-up (indien beschikbaar), kwamen drie groepen naar voren (onbepaalbaar HCA, HCA/HCC en HCC). De tumor gerelateerde mortaliteit was verschillend in deze subgroepen: 1/18 (5,6%) in HCA, 5/14 (35,7%) in onzeker HCA/HCC en 4/9 (44,4%) in de HCC-groep ($P = .031$). Dit benadrukt het belang van expert revisie bij mannelijke HCA-patiënten, het gebruik van relevante immunohistochemie en NGS in geval van onzekerheid, om te helpen bij het uitdagende, maar prognostisch relevante onderscheid tussen HCA en goed gedifferentieerd HCC.

In **Hoofdstuk 12** wij hebben getracht de transporters te identificeren die de opname van FCH in hepatocyten mediëren. Intrahepatische signaal distributie patronen van patiënten met FNH, HCA en HCC op PET FCH werden gecorreleerd met de expressie patronen van organische kation transporters (OCTs). Expressiepatronen werden beoordeeld met behulp van RT PCR en Western blotting. Bij drie patiënten met HCA was de intensiteit van het FCH PET-signaal verlaagd ten opzichte van de normale lever. Dit was gecorreleerd met de gelijktijdige downregulatie van OCT1 en OCT3 mRNA. Bij een andere patiënt met HCA vertoonden laesie en omliggend weefsel geen verschil in signaal, hetgeen samenviel met gelijktijdige downregulatie van OCT1 en upregulatie van OCT3. Dit suggereert dat OCT1 een betrouwbare biologische variabele is in de accumulatie van FCH in intrahepatische laesies.

Hoofdstuk 13 onderzoekt de rol van organische anion uptake en efflux transporters (OATP1B1, OATP1B3, MRP2 and MRP3) in goedaardige levertumoren en suggereert dat hun expressie een gebrek aan specificiteit en misdiagnose op MRI kan veroorzaken. Hierdoor kan een atypische HCA hyperintens afgebeeld worden op MRI met Gd-EOB-DTPA in de hepatobiliaire fase en verward worden met een FNH. Daarnaast beschreven wij als eerste de rol van het farnesoid X receptor (FXR) pathway in goedaardige levertumoren, welke betrokken is in de galzout en lipide homeostase, en bovengenoemde transporters reguleert. Wij vonden dat lagere mRNA expressie van OATP1B3 gecorreleerd was met hypointensiteit van de tumor, in vergelijking met omliggend leverweefsel. Alle H-HCA en 20 van de 22 I-HCA die in deze studie werden opgenomen waren hypointens, wat overeenkwam met een downregulatie van OATP1B1, OATP1B3 en multi drug resistant protein (MRP) 2 in H-HCA, en een downregulatie van OATP1B3 in I-HCA. De twee atypische, hyperintense I-HCA vertoonden een sterke upregulatie van OATP1B3, wat suggereert dat de expressie van OATP1B3 een belangrijke determinant is van de Gd-EOB-DTPA-opname in HCA.

Het gebrek aan specificiteit in detectie van HCA in deze studie kwam voornamelijk voort uit U-HCA, die hyperintense waren in 4 van de 8 gevallen, wat het belang benadrukt van uitbreiding van het aanbod van diagnostische en prognostische moleculaire markers.

PhD Portfolio

Name PhD student: Belle Vivica van Rosmalen
PhD period: 2015 – 2022 (combined with masters)
Amsterdam UMC: Department of Surgery
Promotors: Prof. Dr. Thomas M. van Gulik
Prof. Dr. Joanne Verheij

PhD training

Summer school of experimental Surgery	2015	2 ECTS
Advanced biostatistics	2016	2,1 ECTS
Laparoscopic insufflation	2017	0.5 ECTS
Clinical trials	2018	1 ECTS
E-BROK ('Basiscursus Regelgeving Klinisch Onderzoek')	2017	1,5 ECTS

Congress presentations

Digestive Disease Days, benign liver tumour symposium: invited speaker and chairman	2018; 2019	2 ETCS
NvVH najaarsdag: oral presentations	2018	1 ECTS
IHPBA Amsterdam: poster presentation	2019	1 ECTS
ESSR Amsterdam: two oral presentations		
ESSR Madrid: oral presentation	2017; 2018	2 ETCS
EAHPBA Mainz: oral presentation		
EAHPBA Geneva: oral presentation and poster presentation	2017; 2018	2 ETCS
Chirurgen dagen: oral presentation	2017	1 ECTS

Teaching

Guidance of 5 Bachelor students	2017-2021	10 ECTS
Suturing instructor Mosaic	2018	2 ECTS
Suturing instructor OK-flex	2019	0.5 ECTS

Other

Dutch Benign Liver Tumour Group (DBLTG), co-founder and secretary <i>Partners: AUMC, UMCG, Erasmus MC, UMCU, LUMC, MUMC and Radboud MC</i>	2017-2022	10 ECTS
Medical illustrator of "Prometheus, tussen kunst en lever"	2020	4 ECTS
Medical illustrator of the second edition of "Compendium Geneeskunde" medical textbook	2018-2019	4 ECTS

Medical illustrator of “Klinische Blik” text book
for first year medical students of the VUMC 2017-2018 2 ECTS

Research grants

MD/PhD scholarship:

“Benign liver tumours, a patient tailored approach”	2015	€ 139.000
Multidisciplinary research initiatives grant of the NVGH	2018	€ 15.000
MD/PhD scholarship:		
“Benign liver tumours, a nationwide collaboration”		
<i>Assigned to my successor, Alicia Furumaya</i>	2018	€ 108.023
Hartmann Müller-Foundation travel grant for basic science	2019	CHF 2000
Hartmann Müller- Foundation		
“Identification of transport systems for the PET imaging tracer fluorocholine”		
	2014	CHF 1500

List of publications

In this thesis

1. **van Rosmalen BV**, Bieze M, Besselink MG, Tanis P, Verheij J, Phoa SS, *et al.* Long-term outcomes of resection in patients with symptomatic benign liver tumours. HPB (Oxford). 2016;18(11):908-14.
2. Klompenhouwer AJ*, **van Rosmalen BV***, Haring MPD, Thomeer MGJ, Doukas M, Verheij J, *et al.* A multicentre retrospective analysis on growth of residual hepatocellular adenoma after resection. Liver Int. 2020;40(9):2272-8.
3. **van Rosmalen BV**, de Graeff JJ, van der Poel MJ, de Man IE, Besselink M, Abu Hilal M, *et al.* Impact of open and minimally invasive resection of symptomatic solid benign liver tumours on symptoms and quality of life: a systematic review. HPB (Oxford). 2019;21(9):1119-30
4. Alicia Furumaya* **van Rosmalen BV***, Jan Jaap de Graeff, Marcel J. van der Poel, D. Ramsoekh, G. Kazemier, J. Verheij, R. Bart Takkenberg, Marc G. Besselink, Joris I. Erdmann, Thomas M. van Gulik. Relief of symptoms and quality of life after conservative and surgical treatment of benign liver tumors (CONSULT): a retrospective propensity score matched study. Submitted. 2022
5. Alicia Furumaya* Haring MPD*, **Belle V. van Rosmalen***, Anne J. Klompenhouwer, Marc G. Besselink, Robert A. de Man, Jan N.M. IJzermans, Maarten G.J. Thomeer, Matthijs Kramer, Mariëlle M.E. Coolsen, Maarten E. Tushuizen, Alexander F. Schaapherder, Robbert J. de Haas, Evelien W. Duiker, Geert Kazemier, Otto M. van Delden, Joanne Verheij, R. Bart Takkenberg, Frans J.C. Cuperus, Vincent E. de Meijer#, Joris I. Erdmann#. Study protocol for a multicenter nationwide prospective cohort study to investigate the natural course and clinical outcome in benign liver tumors and cysts in the Netherlands: the BELIVER study. BMJ Open, in press. 2022.
6. **van Rosmalen BV**, Coelen RJS, Bieze M, van Delden OM, Verheij J, Dejong CHC, *et al.* Systematic review of transarterial embolization for hepatocellular adenomas. Br J Surg. 2017;104(7):823-35.
7. Furumaya A*, **van Rosmalen BV***, Takkenberg RB, van Delden OM, Dejong CHC, Verheij J, *et al.* Transarterial (Chemo-)Embolization and Lipiodolization for Hepatic Haemangioma. Cardiovasc Intervent Radiol. 2019;42(6):800-11.
8. Furumaya A*, **van Rosmalen BV***, de Graeff JJ, Haring MPD, de Meijer VE, van Gulik TM, *et al.* Systematic review on percutaneous aspiration and sclerotherapy versus surgery in symptomatic simple hepatic cysts. HPB (Oxford). 2021;23(1):11-24.
9. **van Rosmalen BV**, Klompenhouwer AJ, de Graeff JJ, Haring MPD, de Meijer VE, Rifai L, *et al.* Safety and efficacy of transarterial embolization of hepatocellular adenomas. Br J Surg. 2019;106(10):1362-71.
10. **van Rosmalen BV**, Furumaya A, Klompenhouwer AJ, Tushuizen ME, Braat AE, Reinten RJ, *et al.* Hepatocellular adenoma in men: A nationwide assessment of pathology and correlation with clinical course. Liver Int. 2021;41(10):2474-84.
11. Visentin M, **van Rosmalen BV**, Hiller C, Bieze M, Hofstetter L, Verheij J, *et al.* Impact of Organic Cation Transporters (OCT-SLC22A) on Differential Diagnosis of Intrahepatic Lesions. Drug Metab Dispos. 2017;45(2):166-73.
12. **Belle V. van Rosmalen**, Michele Visentin, Alicia Furumaya, Otto van Delden, Geert Kazemier, Christine Sempoux, Thomas M. van Gulik, Joanne Verheij, Bruno Stieger. Association between Gadoxetic Acid-enhanced Magnetic Resonance Imaging, organic anion transporters, and farnesoid X receptor in benign focal liver lesions. Submitted. 2022.

13. **van Rosmalen BV**, Verheij J, Phoa S, van Gulik TM. Hepatic epithelioid haemangioendothelioma (HEHE): a diagnostic dilemma between haemangioma and angiosarcoma. *BMJ Case Rep.* 2017;2017.

Other publications

14. **van Rosmalen BV**, Alldinger I, Cieslak KP, Wennink R, Clarke M, Ahmed Ali U, et al. Worldwide trends in volume and quality of published protocols of randomized controlled trials. *PLoS One.* 2017;12(3):e0173042.
15. Klompenhouwer AJ, Alblas M, **van Rosmalen BV**, Haring MPD, Venema E, Doukas M, et al. Development and Validation of a Model to Predict Regression of Large Size Hepatocellular Adenoma. *Am J Gastroenterol.* 2019;114(8):1292-8.
16. El Saadany T, **van Rosmalen B**, Gai Z, Hiller C, Verheij J, Steiger B, et al. microRNA-206 modulates the hepatic expression of the organic anion-transporting polypeptide 1B1. *Liver Int.* 2019;39(12):2350-9.
17. Zhou G, Sprengers D, Mancham S, Erkens R, Boor PPC, van Beek AA, et al. Reduction of immunosuppressive tumor microenvironment in cholangiocarcinoma by ex vivo targeting.
18. Huiskens J, Kool BRJ, Bakker JM, Bruns ERJ, de Jonge SW, Olthof PB, et al. From registration to publication: A study on Dutch academic randomized controlled trials. *Res Synth Methods.* 2020;11(2):218-26.
19. Klompenhouwer AJ, Alblas M, **van Rosmalen BV**, Haring MPD, Venema E, Doukas M, et al. Response to Chen et al. *Am J Gastroenterol.* 2020;115(1):147-8.
20. Zanoni P, Panteloglou G, Othman A, Haas JT, Meier R, Rimbert A, et al. Posttranscriptional Regulation of the Human LDL Receptor by the U2-Spliceosome. *Circ Res.* 2022;130(1):80.

Curriculum vitae

Belle van Rosmalen werd op 13 juli 1994 geboren te Amsterdam. Ze groeide op in Hoorn en ontwikkelde op jonge leeftijd al een interesse in geneeskunde. In 2012 slaagde zij cum laude voor haar eindexamen, op de vrije school in Bergen. Van 2013 tot 2015 volgde Belle de bachelor geneeskunde aan de universiteit van Amsterdam in combinatie met het honours-programma, welke ze beiden cum laude afrondde. In 2015 schreef Belle het onderzoeksvoorstel voor “Benign liver tumours, a patient tailored approach”, waarvoor zij van de graduate school van het Academisch Medisch Centrum van Amsterdam een beurs ontving. Met deze beurs kon ze deelnemen aan het MD-PhD programma, op de afdeling experimentele chirurgie, onder begeleiding van Prof. Dr. Thomas van Gulik en dr. Prof. Joanne Verheij. Hierdoor kon ze haar promotieonderzoek combineren met haar coschappen.

Een half jaar van haar promomotie onderzoek besteedde Belle in het laboratorium van farmacologie en toxicologie aan de Universiteit van Zurich, onder begeleiding van Prof. Dr. Bruno Stieger, waar ze haar interesse in innovatieve geneesmiddelen ontdekte.

Samen met Dr. Vincent de Meijer en Martijn Haring van het Universitair Medisch Centrum Groningen, richtte Belle in 2017 de Dutch Benign Liver Tumour Group op, waar alle Academische centra van Nederland zich bij aansloten. Na het landelijk uitrollen van de BELIVER-studie werd de DBLTG ondergebracht als werkgroep bij de Nederlandse Vereniging van Hepatologie. In 2021 ronde Belle haar semi-arts stage af op de afdeling trauma chirurgie van het AMC. Hiermee sloot ze na drie jaar coschappen en 2.5 jaar promotieonderzoek, haar studie geneeskunde af in 2021. In deze periode maakte Belle ook illustraties voor de boeken *Compendium Geneeskunde* en *Prometheus tussen kunst en Lever*. Aansluitend begon Belle als ANOIS-chirurgie in het Dijklander Ziekenhuis. Na 6 leerzame maanden besloot Belle ervaring op te doen in het bedrijfsleven. Ze zette haar carrière voort bij Eli Lilly, waar ze nu Director-Medical Oncology is.

Dankwoord / Words of thanks and appreciation

Thomas, het laboratorium experimentele chirurgie was voor velen een magische plek. Experimenten met varkens, anatomiecursussen, groot wetenschappelijk aanzien en een team vol kleurrijke figuren. Je zorgde voor ons als een echte pater familias. De vele etentjes die we met het lab hadden zijn voor mij dierbare herinneringen. Maar ook met zijn tweeën hebben we bijzondere dingen beleefd, van het restauratieatelier van het Rijksmuseum tot de toekomst voorspellen met schapenlevers zoals de Etrusken dat deden. Je hebt de belangrijkste stap in mijn carrière, mijn promotieonderzoek, mogelijk gemaakt. Je was een fantastische mentor, heel veel dank voor alles.

Joanne, altijd scherp, eigenzinnig, waanzinnig slim en humoristisch. Jouw kritische blik heeft de kwaliteit van mijn werk aanzienlijk verbeterd, en mijn passie voor wetenschap verder aangewakkerd. De academische wereld is niet per se gemakkelijk of rechtvaardig, maar wij hebben er vaak samen om kunnen lachen. Wat een prachtige onderzoekslijn hebben we opgezet, die nu voortleeft in het werk van Alicia. Veel dank voor jouw vertrouwen, support en het in de juiste banen leiden van mijn (goede en minder goede) ideeën voor projecten. Voor mij ben jij een rolmodel, heel veel dank voor alles.

Bruno, the part of my PhD that we have worked on together is by far the most complex of all chapters in my thesis. Within your lovely team of biochemists and hardcore scientists I always felt a bit undereducated as a medical doctor. Nonetheless I felt very welcome in this warm and humoristic group, of which some members will remain my lifetime friends. Thank you so much for providing a home away from home for me, and for inviting me for dinner with you and Gerti. You are both wonderful people, blessing those who have the luck to meet you with warmth, kindness, amazing food, and humour. I am so grateful for everything that you have done for me, many thanks!

Lieve Mam en Pap, ik had jullie meer willen zien. Wat was het toch telkens druk! Een MD combineren met een PhD, en vervolgens daarnaast een drukke baan, resulteerde in te weinig tijd voor vrienden en familie. Als jullie dit dankwoord lezen betekent het dat de klus is geklaard! Dus dat betekent meer tijd. Hopelijk gaan we elkaar meer zien, veel dank voor jullie geduld de afgelopen jaren. Jullie opvoeding heeft me gevormd. Mam, van jou kreeg ik het medische mee. Pap, van jou de creativiteit. Ik hoop dat als jullie dit boekje lezen, jullie jezelf erin terug herkennen.

Appendices

Lieve Juul, Em en Lotje, ook jullie heb ik te weinig gezien, en wat gaat de tijd snel. Stuk voor stuk zijn jullie opgegroeid tot prachtige en intelligente vrouwen. Jullie talenten, divers als dat ze zijn, hebben de wereld ongelofelijk veel te bieden. Ik zie hoe hard jullie werken en ben ontzettend trots op jullie. Binnenkort maar een keer een zusjesdag organiseren, nu we nog allemaal in Nederland zijn.

Lieve Vasco, het schijnt wat onconventioneel te zijn om je levenspartner te vragen als paranimf. Gelukkig trekken wij ons daar niet al te veel van aan. Van jou heb ik geleerd om naast werk, ook een beetje te ontspannen. Zo sleepte je mij door momenten van stress en drukte heen. Naast mijn geliefde ben je ook echt mijn maatje en door jou heb ik veel nieuwe vrienden leren kennen. Jouw vriendengroep bestaat stuk voor stuk uit parels, zowel de mannen van “oppervlakkigheid” als de mannen van “staal” zijn een verrijking van mijn leven. Jullie streefniveau is voor buitenstaanders soms wat angstaanjagend, maar heeft mij altijd geïnspireerd om het maximale uit mezelf te halen. We zijn een sterk team en ik hou onwijs veel van jou, veel dank voor je support de afgelopen jaren.

Lieve Alicia, wat een geluk heb ik gehad dat jij je bij mij aanmeldde voor het schrijven van je bachelor thesis! Jouw wetenschappelijke talent was direct overduidelijk. Zonder te twijfelen hebben we ons daarom gestort op het aanvragen van de MD/PhD beurs voor jou, wat jou uiteraard lukte. Wat ik toen nog niet wist, is dat ik er ook een fantastische vriendin bij zou krijgen. Ik ben onwijs dankbaar dat ik jou op deze manier in mijn leven heb gekregen. Ik heb veel ontzag voor jouw sterke vermogen om te leren, organisatorisch talent en doorzettingsvermogen. Het is mooi om te zien hoe jij je hebt ontwikkeld van ietwat timide studente tot een vrouw met een uitgesproken en sterk onderbouwde mening, die prima kan opboksen tegen chirurgen. Ik ben trots op jou, en kijk uit naar jouw promotie!

Lieve Mel, binnenkort vieren we ons 10-jarig jubileum. Het is een zegen om jou al zo veel jaar in mijn leven te mogen hebben, al lijkt het wel gisteren dat ik jou ontmoette in de Epstein Bar. Jouw sterke morele kompas, gevoel voor ethiek en passie voor het doen van het juiste zijn een voorbeeld voor mij. Als ik ergens over twijfel, dan denk ik ‘wat zou Mel doen?’. Jij hebt een talent om een diep gesprek te kunnen voeren met daadwerkelijk iedereen; van jong tot oud, hoog- of laagopgeleid, ziek of gezond, iedere politieke achtergrond en zelfs dieren (met name honden) lijken met jou te kunnen converseren. Het is dan ook niet vreemd dat jij een fantastische arts bent, maar dit is slechts een van jouw vele talenten. De wereld ligt aan jouw voeten, en mag dankbaar zijn om jou als bewoner te hebben.

Lieve Fadi, jij bent de personificatie van “work hard, play hard”. Jouw uithoudingsvermogen is ongeëvenaard, en ik ben dankbaar dat ondanks jouw ongelofelijk drukke baan als chirurg in opleiding jij tijd hebt om met mij in de club te staan, of op een terrasje te zitten. Onze vriendschap vindt zijn oorsprong in het lab van Thomas. Van collega's veranderde we in vrienden, en nu heb ik het gevoel dat we van vrienden veranderd zijn in familie. Onze levens zijn sterk met elkaar vervlochten, en ik vind het mooi om te zien hoe jij ook vervlochten bent geraakt in het leven van mijn vrienden.

Lieve Tess, ik weet maar al te goed hoe lastig het kan zijn om een project op te pakken dat even is blijven liggen. Dat vergt extra doorzettingsvermogen, en je moet alle beetjes motivatie bij elkaar schrapen. Ik ben daarom ongelofelijk trots dat je je studie hebt afgerond, in dit jaar dat op z'n zachts gezegd nogal bewogen was. Dat is een topprestatie. Voor mij ben je meer dan familie, zo lang als je op deze aardbol rondloopt zijn we al vrienden. Ik vind het prachtig om te zien hoe ook de rest van mijn vriendengroep onwijs gesteld op jou is geraakt. Met je open houding, natuurlijke nieuwsgierigheid en scherpe vragen kan je het ver schoppen, ik ben heel benieuwd wat je kiest.

Dear Julia, when I was new in Zurich you quickly made me feel at home. Thank you so much for inviting me in your group of friends, to Tonhalle, to Frieda's, it really means a lot to me. Your kindness has inspired me to always give my best, to friends and strangers who come to visit. It is always a pleasure to exchange thoughts with you. I am not only impressed by your scientific knowledge, but also by your knowledge of people and huge emotional intelligence. You stole my heart again when you put on "Planet Caravan" from Black Sabbath. This is one of my favorite songs, and I rarely meet people who know it and appreciate it like we do (only Vasco). I am convinced that you will accomplish remarkable things in your life. And who knows, perhaps in a next chapter we will do so together.

Lieve Joost, op het lab vonden wij elkaar als echte nerds op het gebied van methodologie en als technoliefhebbers. Jouw succesvolle carrière bij SAS en nu bij Microsoft inspireerde mij om een switch naar de industrie te maken. Dank voor de interessante gesprekken en gezelligheid, hopelijk drinken we snel weer eens een wijntje op het terras in Rotterdam.

Lieve labgekken, RJ, Eef, Zehra, Maurice, Lotte, Julia, Marthe, Michal, Joost, Fadi, Alicia, Kenneth, Goos en Lindy, stuk voor stuk zijn jullie waanzinnige mensen. Wat een mooie tijd heb ik met jullie beleefd op het lab. Varkentjes OK, whisky avonden, congressen, haren knippen, kerst ontbijt, paranimfen... Never a dull moment! Ik kijk uit naar onze lab reünie.

