



## **DNA: STABIEL EN VERANDERLIJK**

**ELLEN C. ZWARTHOFF**

---



## DNA: STABIEL EN VERANDERLIJK

Oplage 1000  
Omslagfoto Levien Willemse, Rotterdam  
Ontwerp Ontwerpwerk, Den Haag  
Drukwerk Demmenie Grafimedia, Alphen aan den Rijn

ISBN 97-89077906-57-6

© Ellen C. Zwarthoff, oratiereeks Erasmus MC  
10 oktober 2008

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd zonder voorafgaande toestemming van de auteur.

Voorzover het maken van kopieën uit deze uitgave is toegestaan op grond van art. 16h t/m 16m Auteurswet 1912 j. Besluit van 27 november 2002, Stb. 575, dient men de daarvoor wettelijk verschuldigde vergoeding te voldoen aan de Stichting Reprorecht te Hoofddorp (Postbus 3060, 2130 KB).

# DNA: STABIEL EN VERANDERLIJK

REDE

In verkorte vorm  
uitgesproken ter gelegenheid  
van het aanvaarden van het ambt van  
bijzonder hoogleraar met als leeropdracht  
Moleculaire Pathologie van Tumorontwikkeling  
aan het Erasmus MC, faculteit van de  
Erasmus Universiteit Rotterdam  
op 10 oktober 2008

door

ELLEN C. ZWARTHOFF



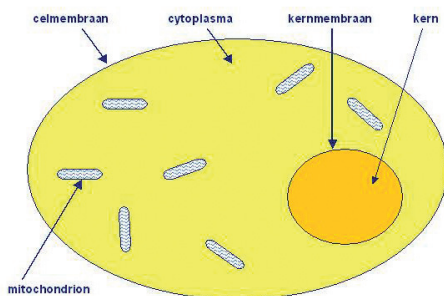
*Meneer de Rector Magnificus,  
Leden van het College van Bestuur van de Erasmus Universiteit,  
Leden van de Raad van Bestuur van het Erasmus Medisch Centrum,  
Geachte Collegae,  
Lieve familie en vrienden*

## **Inleiding**

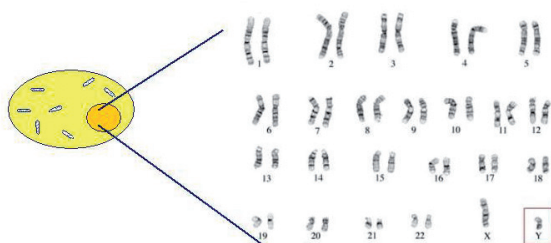
**D**NA en kanker zijn onlosmakelijk met elkaar verbonden. Kanker is een ziekte van het DNA. Het zijn veranderingen in het DNA die van een gewone cel een kankercel maken. In de Verenigde Staten van Amerika is kanker inmiddels de belangrijkste doodsoorzaak<sup>1</sup>. De sterfte aan hart en vaatziekten is de laatste decennia hard omlaag gegaan. Bij kanker gaat dat helaas beduidend minder snel. Waarom is dat het geval en wat maakt kanker zo'n lastig probleem? Ik zal proberen u in grote lijnen een beeld te schetsen van de huidige stand van de wetenschap met betrekking tot de moleculaire achtergronden van tumorontwikkeling en de problemen die er zijn in het onderzoek aan kanker.

## Het belang van stabiel DNA

Om het belang van DNA te kunnen begrijpen, is het essentieel om een idee te hebben van de context waarin dit DNA opereert in de cel. Het menselijk leven begint bij de bevruchte eicel. Cellen zijn de bouwstenen van ons lichaam. Na de bevruchting gaat de eicel groeien en delen en de dochtercellen delen weer verder en het embryo wordt groter. Intussen specialiseren de cellen zich tot hart, spier of bloedcellen. Het gaat om enorme hoeveelheden cellen want het lichaam van een kleuter van 3 jaar bevat al 10 biljoen ( $10^{13}$ ) cellen en dat van een volwassen mens ongeveer  $5 \times 10^{13}$  cellen. Een cel is een bolachtige structuur met een doorsnee van één-honderste millimeter en is alleen door de microscoop te zien. In figuur 1 is een schematische doorsnede van een cel te zien. De wand van de cel wordt gevormd door de celmembraan. In de cel bevindt zich het cytoplasma.



Figuur 1. Dwarsdoorsnede door een cel.

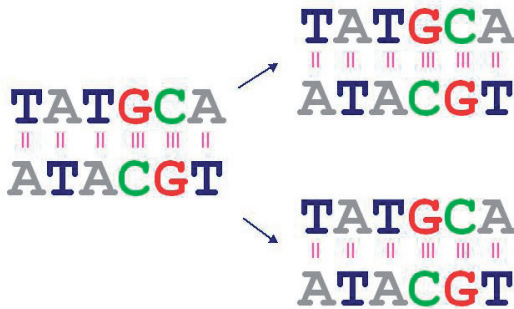


Figuur 2. In de celkern bevinden zich de 23 chromosomenparen (rechts), <http://www.kennislink.nl/>.



Verder zijn er organellen zoals het mitochondrion dat voor de energiehuishouding van de cel zorgt. Cellen van hogere organismen zoals de mens hebben een kern die door de kernmembraan van het cytoplasma is gescheiden. In de celkern van de cel bevinden zich de chromosomen. Chromosomen zijn DNA-eiwit complexen. Een menselijke celkern bevat 46 chromosomen die 23 chromosoomparen vormen (figuur 2).

Van ieder chromosoompaar is steeds één van de moeder en één van de vader van het individu afkomstig is. Een chromosoom bevat twee DNA strengen die samen de dubbele helix vormen zoals die in 1953 door Watson en Crick is ontdekt. De DNA strengen hebben een suiker-fosfaat ruggengraat. In het binnenste van de DNA helix bevinden zich de belangrijke onderdelen, de basen. Er zijn 4 verschillende basen in het DNA die elkaar steeds afwisselen. De basen worden weergegeven met de letters A, G, C en T. De twee DNA strengen zijn niet onafhankelijk van elkaar, ze zijn complementair omdat een A in de ene streng altijd tegenover een T in de andere streng zit en datzelfde geldt voor de G en de C. We spreken dan van AT en GC basenparen. Deze basenparen worden bij elkaar gehouden door waterstofbruggen. Dit zijn relatief zwakke bindingen zodat de twee strengen makkelijk uit elkaar kunnen gaan (figuur 3, linker deel).



Figuur 3. DNA is opgebouwd uit 4 basen en twee strengen (links). De roze streepjes geven de waterstofbruggen weer die de twee strengen bij elkaar houden. Bij duplicatie gaan de strengen uit elkaar en wordt tegen iedere streng weer een nieuwe gemaakt. De twee dochters zijn daarom identiek aan het oorspronkelijke DNA (rechts).

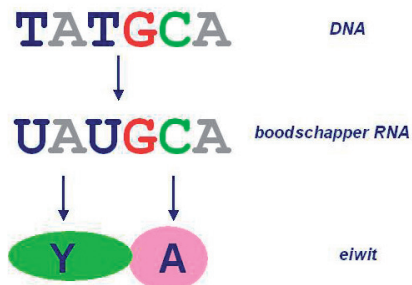
Het totale menselijke genoom, oftewel de totale genetische informatie van de mens, bestaat uit 3 miljard basenparen en is verdeeld over 23 chromosomen. Alle cellen, behalve de onbevuchte eicel en de spermatozoa, zijn diploïd, dat wil zeggen dat ze de dubbele genetische informatie hebben, want er zijn immers 23 chromosoomparen. Als een cel wil gaan delen, zal hij eerst zijn volume moeten verdubbelen en pas daarna wordt het DNA gedupliceerd (verdubbeld). Om dit te bereiken gaan de twee strengen van het DNA uit elkaar en wordt tegen iedere streng een nieuwe streng gesynthetiseerd.

Dankzij de regel dat A met T en C met G paart, ontstaan er nu twee identieke DNA kopieën (figuur 3, rechter deel). Dit kopiëren gebeurt met een grote nauwkeurigheid. Mocht er al een fout worden gemaakt dan wordt die onmiddellijk hersteld door de DNA herstelsystemen. U kunt dit vergelijken met een typist die maximaal 1 fout mag maken bij het overtypen van een paar miljoen pagina's tekst. Nadat het DNA in zijn geheel is gekopieerd, kan de cel gaan delen. De verdubbelde chromosomen worden hierbij netjes over de dochtercellen verdeeld. Het resultaat is dat beide dochtercellen nu exact dezelfde genetische informatie hebben. Dat wil zeggen dat alle cellen in het menselijk lichaam identieke chromosomen hebben. Ook al merken we daar niets van, er zijn op ieder moment miljoenen cellen in uw lichaam bezig met DNA replicatie en celdeling.

De extreme betrouwbaarheid waarmee het DNA wordt gekopieerd is hetzelfde voor alle organismen, of het nu eencellig bacteriën betreft of een menselijke cel. Deze lage mutatiefrequentie heeft uiteindelijk de ontwikkeling van complexe wezens mogelijk gemaakt. Het verschil in de DNA volgorde van een mens en een chimpansee is daarom na 5 miljoen jaar separate evolutie slechts één procent. Mensen verschillen onderling slechts in 1 promille van hun DNA, of ze nu rood, zwart, geel of wit zijn. Kortom, DNA is een stabiele en betrouwbare factor gebleken.

### Expressie van de genetische code van het DNA

**D**NA bevat de genetische informatie maar doet zelf verder niets. Om een cel zijn werk te laten doen zijn eiwitten nodig. De volgorde van de basen in het DNA (de genetische code) schrijft voor hoe een eiwit eruit zal zien. Een stuk DNA dat de genetische code bevat voor 1 eiwitmolecuul noemen we een gen. Om een eiwit te maken wordt eerst de genetische code van het relevante stuk DNA overgeschreven in een RNA molecuul (figuur 4).

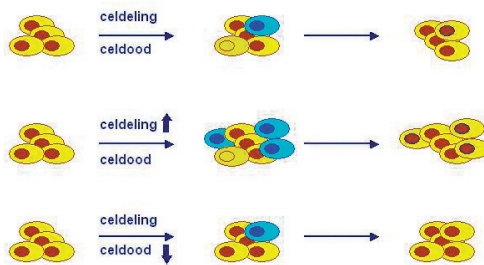


Figuur 4. De genetische code: 3 basen coderen voor 1 aminozuur in het eiwit. Y is de afkorting voor het aminozuur tyrosine, A voor alanine.

Dit boodschapper RNA lijkt op DNA maar heeft iets andere basen en er is maar 1 streng. Het boodschapper RNA wordt vervolgens vertaald door gebruik te maken van de genetische code. Die code houdt in dat steeds drie basen voor 1 bouwsteen van een eiwit coderen. Die tripletten worden ook wel codons genoemd. Er zijn 20 verschillende eiwitbouwstenen. De eiwitbouwstenen heten aminozuren. Het hormoon insuline bijvoorbeeld, is een klein eiwit dat bestaat uit iets meer dan 100 aminozuren. Ook de replicatie van het DNA, de transcriptie van RNA en de synthese van eiwitten zijn processen die door eiwitten worden uitgevoerd. Eiwitten zijn de metselaars, loodgieters, ministers en hoogleraren van de cel. Het zal u niet zijn ontgaan dat enkele jaren geleden de DNA volgorde van het hele menselijke genoom is ontrafeld<sup>2,3</sup>. Dankzij dit project weten we nu dat we ongeveer 30.000 genen in ons genoom hebben. Chromosoom 9 bijvoorbeeld, is ongeveer 140 miljoen baseparen lang en bevat de genetische code voor 1394 genen. Die 30.000 genen komen echter niet in iedere cel op dezelfde manier tot expressie. Met andere woorden in een levercel zijn andere genen actief dan in een hartcel, enzovoorts. We schatten dat er gemiddeld zo'n 10.000 genen in een bepaald celtype actief zijn. In het ene celtype zijn dat deels andere dan in een ander celtype. Welke genen aanstaan en welke niet, wordt geregeld door regelgenen.

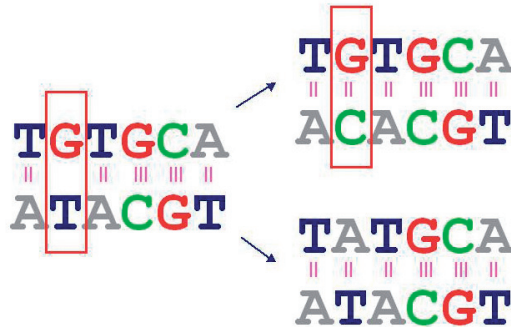
### Kanker is een ziekte van het DNA

**E**r zijn ook regelgenen die coderen voor eiwitten die de celdeling regelen. Cellen kunnen zich delen, maar ze kunnen ook dood gaan. Beide processen gebeuren aan de lopende band en ze moeten elkaar bovendien in balans houden omdat anders de netto hoeveelheid cellen kan toenemen of afnemen. In figuur 5 bovenaan ziet u dat de blauwe cel is er is bijgekomen, maar dat tegelijkertijd de groene cel is doodgegaan. In een kankercel is dit evenwicht verstoord.



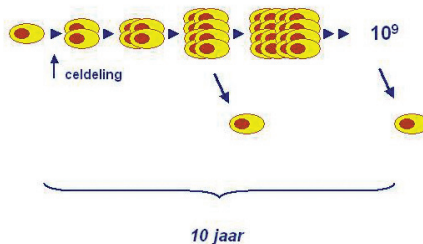
Figuur 5. Een tumor kan ontstaan door een verstoring in de balans tussen celdeling en celdood. Boven: normale situatie; midden: teveel celdeling; beneden: te weinig celdood. De blauwe cellen zijn nieuwe cellen, de lichtgroene zijn cellen die aan het doodgaan zijn.

Als er teveel celdelingen zijn, zonder dat daarvoor gecompenseerd wordt door cellen die dood gaan, neemt het aantal cellen toe (figuur 5, midden). Andersom kan ook, dan wordt het afsterven van cellen geremd, terwijl de celdelingen normaal doorgaan. Ook dan neemt de hoeveelheid cellen toe (figuur 5, onder). De controle van de balans tussen celdeling en celdood gaat verloren door veranderingen in regelgenen. Het zijn deze regelgenen die gemuteerd raken en van een normale cel een kanker cel maken.



Figuur 6. Een mutatie wordt door DNA duplicatie vastgelegd in één van de dochter chromosomen.

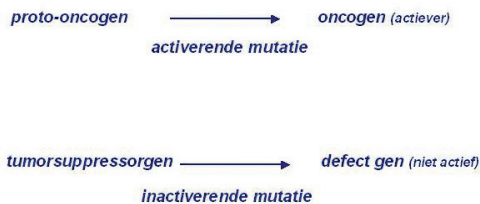
In figuur 6 ziet u een voorbeeld van een verkeerde base die in het DNA van een regelgen is ingebouwd. De oorspronkelijke A is in een G veranderd. Wordt dit DNA gerepliceerd, dan zal in een van de twee dochterchromosomen deze verandering permanent verankerd zijn. Bij volgende celdelingen wordt deze fout verder vermenigvuldigd en alle nakomelingen van deze cel zullen dezelfde genmutatie hebben.



Figuur 7. Het duurt vaak lang voor een nieuw gevormde tumorcel een detecteerbare tumor heeft gevormd.

Een tumor wordt pas relatief laat ontdekt. Zelfs met de beste huidige beeldvormende technieken zoals een CT scan of een MRI wordt een tumor op zijn vroegst ontdekt als hij al één kubieke centimeter groot is. Zo'n tumor ter grootte van een suikerklontje bevat dan al één miljard cellen. De ontwikkeling van een tumor vanuit de cel met de eerste genmutatie kan dus een langdurig proces zijn. Dit betekent dat een groot deel van het tumorvormende proces zich afgespeelt buiten ons gezichtsveld. Bij een typische borsttumor kan deze eerste fase wel 10 jaar bedragen (figuur 7). Ondertussen kunnen zich tijdens deze hele voorgeschiedenis, althans bij sommige agressieve tumoren, al metastasen hebben gevormd.

Welke genen spelen nu een rol? In principe kunnen we twee soorten kankergenen onderscheiden. Dit zijn in de eerste plaats de oncogenen. Een proto-oncogen kan een normaal gen zijn dat codeert voor een eiwit dat bijvoorbeeld de cel aanzet tot delen. In normale cellen zal dat gecontroleerd gebeuren. Door een mutatie kan het proto-oncogen een oncogen worden en het resultaat is altijd dat het eiwit veel actiever is geworden. Er worden nu teveel signalen gegeven aan de cel om te gaan delen (figuur 8).



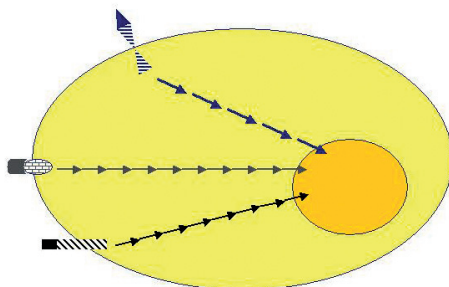
---

Figuur 8. De twee groepen kankergenen: oncogenen en tumorsuppressorgen.

Een tweede groep genen die een rol spelen zijn de tumorsuppressorgen. De eiwitten waarvoor deze genen coderen, spelen in het algemeen een remmende rol bij de celdeling of ze bevorderen juist celdood wanneer de cel in een stress situatie belandt. Deze genen moeten nu juist door DNA veranderingen uitgeschakeld worden om tot kanker te kunnen leiden.

De eiwitten waarvoor de oncogenen en tumorsuppressorgen coderen, zijn te vergelijken met de aanvallers en verdedigers bij voetbal. Als een aanvaller geactiveerd wordt doordat hij de bal krijgt, kan hij wellicht een doelpunt maken, of in het geval van de cel, gaan delen. Wordt de bal afgepakt door een verdediger, dan gaat dat niet door. Wordt de verdediger echter uitgeschakeld door een slimme manoeuvre, dan kan er weer wel gescoord worden. Onze cellen zitten nog wat complexer in elkaar. Feitelijk zijn er meestal wel meerdere wedstrijden tegelijk aan de gang. Een signaal van buiten,

bijvoorbeeld in de vorm van een groeifactor die aan zijn receptoreiwit op het oppervlak van de cel bindt, wordt via verschillende andere, soms wel een tiental, eiwitten doorgegeven aan de kern als was het een soort estafetteploeg (figuur 9).



Figuur 9. Signalen vanuit de omgeving van de cel worden doorgegeven in een soort estafetteploeg. In de kern worden de verschillende signalen geïntegreerd en op grond hiervan gaat de cel eventueel delen. De gearceerde figuren stellen de receptoren voor die door de celmembranen heen steken. De massieve figuren zijn de groeifactoren die aan hun receptor binden aan de buitenkant van de cel. De pijlen zijn de verschillende stappen in de signaaloverdracht die nodig zijn voordat het signaal bij de kern komt. Alle signalen worden in de kern geïntegreerd.

Tegelijkertijd worden ook andere signalen door de cel ontvangen en ook die komen uiteindelijk via weer andere doorgeefroutes in de kern terecht. Daar worden de signalen geïntegreerd en verandert eventueel de expressie van de regelgenen. In de kern wordt zo besloten of de cel niet reageert, gaat delen of doodgaat. De genmutaties in een kankercel verstoren meestal meerdere van deze regelprocessen<sup>4</sup>.

### Het verminkte genoom van een kankercel

**H**oeveel kankergenen zijn er? De teller wordt bijgehouden door het Sanger Instituut in Cambridge en stond op 31 december 2008 op 384 kankergenen (<http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census/>). Momenteel wordt de DNA volgorde van een groot aantal verschillende tumortypen bepaald, de kans dat het aantal kankergenen daardoor nog zal toenemen is groot. Recent onderzoek heeft uitgewezen dat meestal veel genen in een tumor gemuteerd zijn. Tumoren van de pancreas (alvleesklier) en glioblastoma multiforme (een bepaald soort hersentumor) behoren tot de tumoren met een zeer slechte prognose. In de pancreastumoren vond men met een uitgebreide analyse, waarbij de DNA volgorde van meer dan 20.000 genen werd bepaald, en waar ook werd gekeken naar verlies en vermenigvuldiging van stukken DNA, dat de tumorcellen

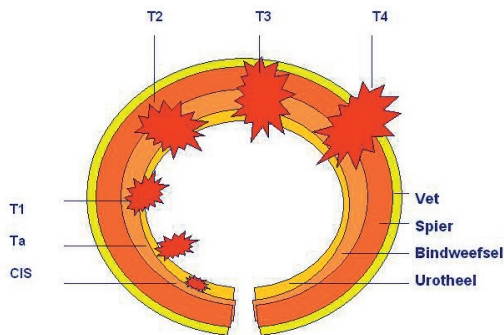
gemiddeld meer dan 60 genetische veranderingen hadden ondergaan, waarvan de meeste puntmutaties betroffen waarbij dus maar één basenpaar in een gen was veranderd<sup>5</sup>. Het gemiddelde aantal genetische veranderingen in de glioblastomen was ook 60<sup>6</sup>. Het slechte nieuws is verder dat de mutaties die in pancreastumoren werden gevonden weer andere genen betroffen dan die in glioblastomen en andere tumoren. Uit dit en eerder onderzoek kwam ook naar voren dat de genetische afwijkingen zelfs in tumoren uitgaande van hetzelfde weefsel onderling erg verschillen. Dit heeft mogelijk grote consequenties voor het vinden van medicijnen. Een medicijn zoals Gleevec (ook Imatinib genoemd) dat een groot succes is bij de behandeling van chronische myeloïde leukemie omdat het heel specifiek het eiwit geproduceerd door een oncogen remt, werkt praktisch alleen op het product van dit veranderde gen. Nu blijkt dat de diversiteit bij de solide tumoren (tumoren die niet van bloedcellen afkomstig zijn) zo groot is, zou een soortgelijke remmer slechts werken in een zeer beperkte groep patiënten en zouden er vele verschillende remmers moeten worden ontwikkeld om alle patiënten met een bepaald type kanker te helpen. Het goede nieuws is dat deze analyses ook laten zien dat alhoewel er veel verschillende genen gemuteerd kunnen raken, vele daarvan een rol spelen in een zelfde signaaldoorgevend regulatieproces oftewel estafetteloop. Vaak is het zelfs zo dat waar de ene tumor een mutatie heeft in bijvoorbeeld de eerste stap van de signaalroute, een andere tumor een mutatie heeft verderop in de route. Door geneesmiddelen te ontwikkelen die de signaaloverdracht pas aan het einde van het proces afremmen, oftewel het estafettestokje afpakken vlak voor de finish, zou de werking onafhankelijk zijn van de tussenstap waar de mutatie is opgetreden. Verder is het waarschijnlijk dat niet alle mutaties in een tumorcellen mutaties zijn die nodig zijn voor de overleving van de tumor. Per tumor lijken er zo'n 7 tot 15 gemuteerde genen te zijn die essentieel zijn geweest voor het ontstaan van de tumor en meestal functioneren die in een beperkt aantal signaalroutes. Het kan vele tientallen jaren duren voordat al de noodzakelijke mutaties zich hebben opgestapeld in de prille kanker cel nog voordat deze uitgroeit tot een tumor. Vaak kunnen mutaties ook nog gerepareerd worden. Op een gegeven ogenblik is het genoom van de cel echter zo instabiel geworden dat de normale controle mechanismen gaan falen en celvermeerdering optreedt. Deze noodzakelijke opeenstapeling van mutaties en de tijd die nodig is om van één cel uit te groeien tot een detecteerbare tumor is de reden dat kanker een ziekte is van de oude dag. Gelukkig maar, want als mensen al op jonge leeftijd kanker zouden krijgen, zouden er veel minder kinderen geboren worden waar ook nog niet goed voor gezorgd zou kunnen worden en zou de mens wellicht nooit zijn ontstaan.

## Blaaskanker

**I**n Nederland worden per jaar 4500 nieuwe gevallen van kanker van de urineblaas geconstateerd (<http://www.ikcnet.nl/>). Ongeveer een kwart van de patiënten overlijdt daadwerkelijk aan blaaskanker. Bloed in de urine is meestal het eerste

symptoom. Blaaskanker komt vaker voor bij mannen dan bij vrouwen, voor een deel omdat, althans in het verleden, meer mannen rookten dan vrouwen. Recent onderzoek van een Spaanse groep laat zien dat regelmatig plassen het risico kan halveren.

We onderscheiden verschillende stadia van blaastumoren afhankelijk van de mate van doorgroei van de tumor. De cellaag die direct contact met de urine heeft is de urotheellaag (figuur 10).



Figuur 10. De verschillende stadia van blaaskanker. De tekening geeft een dwarsdoorsnede van de urineblaas weer. Alle tumoren in de blaas ontstaan vanuit het urotheel. Dit is de cellaag die in contact komt met de urine.

Alle blaastumoren gaan uit van cellen uit het urotheel. Tumoren die zich beperken tot de urotheellaag of hooguit doorgroeid zijn in de bindweefsel laag worden oppervlakkige tumoren genoemd. Zij maken ongeveer 80% van alle nieuwe tumoren uit. De overige 20% wordt gevormd door de spier-invasieve tumoren.

De behandeling van blaaskanker is afhankelijk van het stadium. Is er sprake van een spier-invasieve tumor dan wordt meestal de hele blaas verwijderd (cystectomie) en krijgt de patiënt een stoma. De oppervlakkige tumoren worden via de plasbuis weggehaald. Dit heet een transurethrale resectie, afgekort met TUR. De overleving van patiënten met een oppervlakkige tumor is erg goed, na 5 jaar is meer dan 80% van de patiënten nog in leven. Bij de groep met een spier-invasieve tumor zijn de vooruitzichten helaas veel slechter.

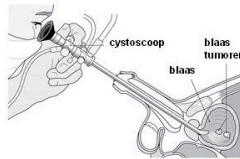
De oppervlakkige tumoren hebben wel een groot nadeel en dat is dat ze vaak recidiveren. Recidieven worden bij 60% van deze patiënten gevonden<sup>7</sup>. De recidieven kunnen overal in de blaas worden aangetroffen, ze zitten dus niet per definitie op dezelfde plek als de oorspronkelijk tumor. Er is een kleine kans dat een recidief uiteindelijk evolueert tot een spier-invasieve tumor. Al met al betekent dit dat deze patiënten regelmatig terug moeten komen voor controle. Deze controle bestaat uit een



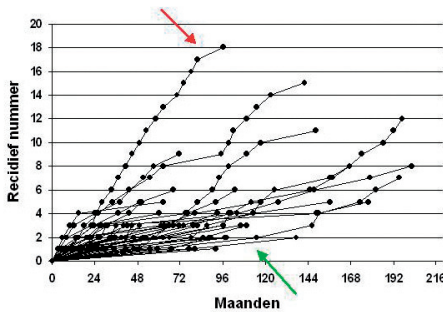
cystoscopisch onderzoek, dat wil zeggen dat de uroloog met een scope via de plasbuis de blaas van binnen bekijkt (figuur 11).

In de eerste twee jaar gebeurt dat iedere 3 à 4 maanden, treedt er geen recidief op, dan gaat de frequentie omlaag. Naar schatting worden in Nederland meer dan 40.000 cystoscopieën per jaar uitgevoerd voor het controleren van deze patiënten.

Er zijn grote verschillen tussen patiënten die recidief tumoren krijgen. Wij volgden in een retrospectief onderzoek 118 patiënten die geïncludeerd waren met een oppervlakkig blaascarcinoom. Van deze groep kregen 80 patiënten recidieven.

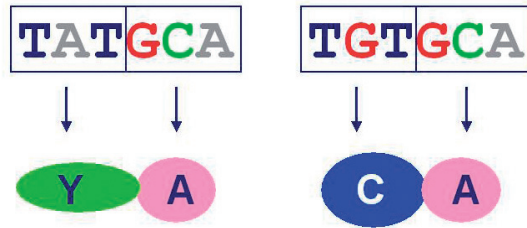


Figuur 11. Cystoscopie.



Figuur 12. De snelheid waarmee recidief tumoren optreden verschilt per patiënt. De rode en groene pijlen geven patiënten aan met respectievelijk veel en weinig recidief tumoren.

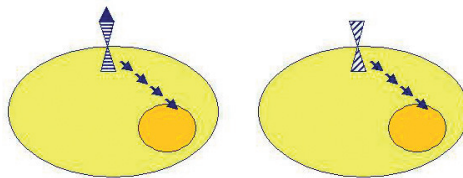
In figuur 12 is het aantal recidieven van deze 80 patiënten uitgezet tegen de tijd. Hierin is te zien dat 1 patiënt bijvoorbeeld 18 recidieven kreeg in een periode van 8 jaar, terwijl een andere patiënt slechts twee recidieven ontwikkelde in 12 jaar (L. Kompier J. Path 2009, in druk). Op het moment is het nog niet duidelijk waardoor de verschillen in recidieffrequenties veroorzaakt worden.



Figuur 13. De verandering van een A in een G in het *FGFR3* gen leidt tot de inbouw van een cysteïne aminozuur (C) in plaats van een tyrosine (Y) op aminozuurpositie 375 van het *FGFR3* eiwit (mutatie Y375C).

### Genetische veranderingen in blaascarcinomen

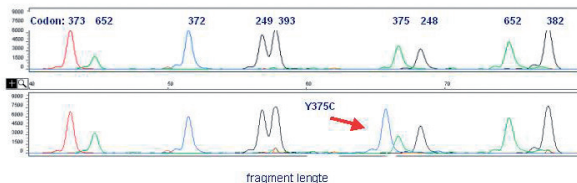
**B**laaskanker is, zoals alle vormen van kanker, een ziekte van het DNA. Oncogenen die gemuteerd kunnen zijn in blaastumoren zijn o.a. *FGFR3* (60% van alle tumoren), *RAS* (15%) en *PIK3CA* (13%). De tumorsuppressorgenen *TP53* en *CDKN2A* zijn in 20-30% van de tumoren geïnactiveerd<sup>8</sup>. Ongetwijfeld spelen nog veel meer genen een rol, maar we moeten even wachten tot ook de DNA volgorde van blaastumoren bepaald is voor we hier meer over kunnen zeggen. In het onderstaande zal ik met name ingaan op het belang van mutaties in de *FGFR3* en *TP53* genen omdat mutaties in deze genen verschillende typen blaastumoren kenmerken.



Figuur 14. Door bepaalde mutaties wordt de *FGFR3* receptor onafhankelijk van de groeifactor FGF. Linkerdeel: In de normale situatie bindt FGF (donkerblauwe driehoek) aan de receptor en de receptor geeft het signaal alleen door als er FGF aanwezig is. Hierdoor gaat de cel delen. Rechterdeel: de mutant receptor is onafhankelijk van de groeifactor en geeft permanent signalen door. De cellen met een mutant gen gaan nu te vaak delen.

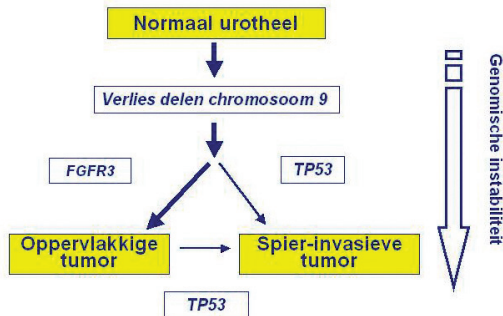
Het *FGFR3* gen codeert voor een groeifactorreceptor. Het receptoreiwit steekt door de celmembraan heen en kan geactiveerd worden door binding van de groeifactor FGF aan de buitenkant van de cel. Het intracellulaire gedeelte van de receptor geeft dit signaal door aan eiwitten in het cytoplasma en uiteindelijk zal het genexpressieprogramma van de cel veranderen. Mutaties in het gen maken de receptor onafhankelijk van de groeifactor en een mutant receptor geeft zijn signalen permanent door. Figuur 14 geeft een vereenvoudigd beeld van deze signaaltransductie en het effect van de mutatie.

De mutaties die worden gevonden in het *FGFR3* gen zijn puntmutaties en zorgen altijd voor de verandering van één aminozuur in het FGFR3 eiwit. Er zijn 11 veel voorkomende mutaties en we hebben een aantal jaren geleden een eenvoudige test ontworpen om al deze mutaties in één keer te screenen<sup>9</sup>.



Figuur 15. Test voor het analyseren van mutaties in het *FGFR3* gen. Bovenste paneel: normale situatie. Onderste paneel: de Y375C mutatie is zichtbaar als een extra piek (rode pijl) in een andere kleur.

In figuur 15 is daarvan een voorbeeld te zien. De bovenste grafiek toont de normale situatie zonder mutaties. Is er een mutatie opgetreden in het geanalyseerde DNA, dan is er een extra piek van een andere kleur (in het voorbeeld blauw), zoals in het onderste paneel. De mutatie is opgetreden in één van de twee kopieën van het gen, vandaar dat ook de normale piek (de groene) zichtbaar blijft. De *FGFR3*-test kan mutaties nog aantonen in de aanwezigheid van 95% normale cellen en er is slechts één nanogram DNA voor nodig. *FGFR3* mutaties vinden we met name in de oppervlakkige tumoren en minder in de spier-invasieve tumoren. Dat is precies omgekeerd voor veranderingen in het *TP53* gen, met als gevolg dat de combinatie van *FGFR3* en *TP53* mutaties zelden voorkomt<sup>10</sup>. Deze bevindingen waren aanleiding om te postuleren dat er genetisch gezien twee verschillende soorten blaaskanker zijn die blijken te corresponderen met de oppervlakkige en de spier-invasieve tumoren. In dit model zal een oppervlakkige tumor ontstaan als er een mutatie optreedt in het *FGFR3* gen terwijl er een spier-invasieve tumor wordt gevormd als *TP53* gemuteerd raakt (Figuur 16).

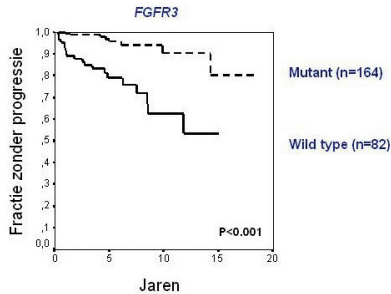


Figuur 16. Vereenvoudigd beeld van de pathogenese van oppervlakkige en spier-invasieve blaastumoren. Een oppervlakkige tumor kan ontstaan na veranderingen op chromosoom 9 als die gevolgd worden door een *FGFR3* mutatie. Daarentegen zal een spier-invasieve tumor worden gevormd als de tweede stap een mutatie in het *TP53* gen is.

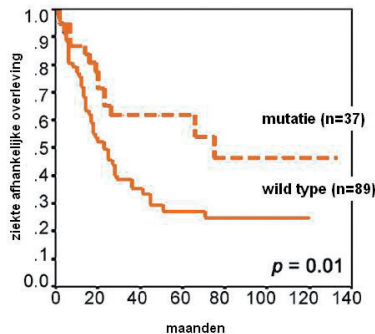
### ***FGFR3* als prognostische marker**

De volgende vraag is of we met de DNA veranderingen ook iets kunnen betekenen voor de patiënt met blaaskanker. Een belangrijk klinisch probleem is of het te voorspellen is welke tumoren op den duur gaan doorgroeien in de spierlaag en welke dat niet doen. De normale gang van zaken is dat na de operatie de patholoog naar een stukje tumorweefsel kijkt en beoordeelt hoe abnormaal het weefsel eruit ziet. Om te onderzoeken of mutaties in het *FGFR3* gen gebruikt konden worden als prognostische marker hebben we DNA geïsoleerd uit het tumorweefsel en daarop een *FGFR3* analyse gedaan. Na analyse van 246 tumoren vonden we dat bijna 50% van de patiënten met een tumor zonder *FGFR3* mutatie, later een spier-invasieve tumor ontwikkelden, terwijl dit maar bij 20% van de patiënten met mutant tumoren het geval was (figuur 17).

Als we *FGFR3* combineerden met een marker voor proliferatie was de voorspellende waarde van deze combinatie beter dan de analyse van de patholoog<sup>11</sup>. Vervolgens hebben we ook naar overleving van patiënten met spier-invasieve tumoren gekeken. In dit geval was dat een combinatie van patiënten met tumoren van zowel de blaas, de urineleider en het nierbekken. De laatste twee typen kanker ontstaan vanuit de urotheellaag die de urineleiders en het nierbekken bekleedt, ze zijn daarom te vergelijken met tumoren van de blaas, maar ze komen minder vaak voor dan blaaskanker. Hier zien we een betere overleving van patiënten met tumoren die een *FGFR3* mutatie hebben (figuur 18).



Figuur 17. Oppervlakkige blaastumoren met een *FGFR3* mutatie vertonen minder vaak progressie (gaan minder vaak doorgroeien in de spierlaag) dan oppervlakkige tumoren zonder de mutatie ("wild type", onderste lijn). In het laatste geval is na 15 jaar bij ongeveer de helft van de patiënten progressie opgetreden. Bij patiënten met mutant tumoren heeft 80% geen progressie na 15 jaar.



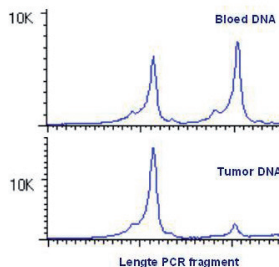
Figuur 18. Patiënten met spier-invasieve tumoren met een *FGFR3* mutatie sterven minder vaak aan de gevolgen van hun tumor dan patiënten met een tumor zonder de *FGFR3* mutatie.

Als we alle tumoren combineren is de *FGFR3* marker weer de beste voorspeller<sup>[12]</sup>. Een *FGFR3* mutatie is derhalve meestal geassocieerd met een gunstig ziektebeloop en is een waardevolle biomarker voor blaaskanker naast diverse andere markers, zoals mutaties in het *TP53* gen, die juist de slechter functionerende groep patiënten karakteriseren. Een marker die goed het ziektebeloop kan voorspellen is waardevol omdat we hiermee patiënten kunnen identificeren die minder of extra therapie nodig hebben.

## Alternatieven voor cystoscopie

**E**r is een aantal redenen om alternatieve diagnostische methoden voor de cystoscopie te onderzoeken. In de eerste plaats wordt cystoscopie door de patiënt als onaangenaam ervaren en is er een kleine kans op urineweginfecties en pijn bij het plassen in de dagen na de cystoscopie<sup>13</sup>. In de tweede plaats is de uroloog niet in staat alle tumoren met cystoscopie te ontdekken. Nieuwe methoden waarbij met fluorescerende stoffen wordt gewerkt, in combinatie met een andere belichting hebben aangetoond dat bij deze techniek meer tumoren worden ontdekt. Ook is cystoscopie niet in staat om recidieven in de urineleiders te detecteren. Het is al langer bekend dat tumorcellen in urine zijn te vinden. Tumorcellen kunnen door de patholoog worden onderscheiden van normale cellen die zich eveneens in urine bevinden (cytologie). Cytologie wordt al vele jaren gebruikt als extra diagnostiek naast de cystoscopie. Cytologie is erg gevoelig voor de meer agressieve tumoren, maar minder voor de oppervlakkige poliepachtige tumoren.

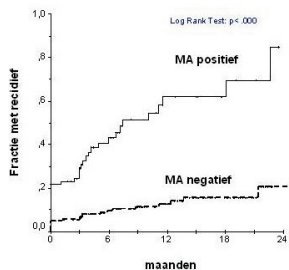
Ruim 10 jaar geleden kwamen de eerste berichten van een Amerikaanse groep die cellen uit de urine gebruikte om naar DNA veranderingen te kijken<sup>14</sup>. Wij hebben dit opgepakt en in een aantal pilot studies laten zien dat dit inderdaad een veelbelovende methode was<sup>11,15</sup>. Op grond van deze resultaten zijn we vervolgens met subsidie van ZonMw aan een grote studie begonnen. Bij dit zogeheten 'Doelmatigheidsonderzoek' vroegen we ons af of een DNA analyse in staat was om efficiënt recidieftumoren in de urine aan te tonen. Een tweede vraag was of de test in staat was recidieven in de hogere urinewegen aan te tonen, aangezien die niet te zien zijn bij een cystoscopie. De DNA test die we hebben gebruikt voor dit onderzoek heet microsatellietanalyse, kort MA.



Figuur 19. Microsatellietanalyse. Bovenste paneel toont twee pieken in de test die afkomstig zijn van de twee kopieën (paternale en maternale) van een chromosoom. In het onderste paneel is een van de pieken veel lager. Dit komt doordat de tumorcellen dit chromosoom zijn verloren.

Figuur 19 laat een voorbeeld zien van een MA-test die verlies van stukken DNA kan aantonen. Microsatellieten bestaan uit een aantal herhalingen van bijvoorbeeld de nucleotiden C en A. Dergelijke repeterende DNA-volgorden zijn relatief instabiel en dit resulteert in verschillen in het aantal CA-herhalingen, waardoor de lengte van de microsatelliet varieert. Als de microsatelliet in lengte verschilt op de maternale en paternale kopieën van een chromosoom (heterozygotie) kunnen we dit lengteverschil aantonen. Is een van de twee chromosomen in de kankercel verloren gegaan, dan verdwijnt een van de twee pieken (verlies van heterozygotie, of LOH). Hierbij moet wel worden vermeld, dat de piek meestal niet helemaal verdwijnt omdat we bijna altijd te maken hebben met een mengsel van tumorcellen en normale cellen. In figuur 19 is in de bovenste grafiek de normale situatie te zien, waarin beide pieken aanwezig zijn. De onderste grafiek laat een analyse zien op DNA geïsoleerd uit cellen uit de urine van een patiënt. Het is duidelijk, dat de rechter piek veel lager is. Dit duidt op de mogelijke aanwezigheid van kankercellen in de urine. Voor het urineonderzoek gebruiken we meerdere microsatellietmarkers op verschillende chromosomen om de gevoeligheid te vergroten.

In het onderzoek werden patiënten in twee groepen ingedeeld. In de ene groep werd iedere 3 maanden een cystoscopie verricht en een urinemonster genomen. De urine werd pas achteraf getest. In de tweede groep werd ook iedere maand een urinemonster afgestaan, maar dit werd direct geanalyseerd. Was de MA test positief dan werd dit meegedeeld aan de uroloog die vervolgens een cystoscopie uitvoerde. In totaal werden 815 urinemonsters onderzocht<sup>16</sup>. Van de 84 recidieftumoren werden er 49 ook gevonden met de urinetest. De sensitiviteit was daarom 58%.



Figuur 20. Een positieve MA test in de urine voorspelt de aanwezigheid van een recidief. In de bovenste lijn neemt de kans dat er een recidief optreedt toe naarmate er meer urines met een positieve uitslag zijn. De onderste lijn toont de kans op een recidief tumor als de test negatief is.

We spreken hier alleen van een recidief als dit bevestigd is door histologisch onderzoek van verwijderd weefsel. Uit deze cross-sectionele analyse (vergelijken van de diagnostische testen op hetzelfde tijdstip) blijkt ook dat er een groot aantal 'vals positieven' is. Dat wil zeggen, dat de MA-test positief was en er op dat moment met cystoscopie geen tumoren werd gevonden. De voorspellende waarde van de MA-test was daarom slechts twintig procent. Dit suggereert dat de test niet gevoelig is en vaak ten onrechte positief uitvalt. Hier kunnen we echter een aantal kanttekeningen bij plaatsen. De MA-test bleek vaak eerder dan de cystoscopie recidieftumoren te kunnen detecteren. Vervolgens we de patiënten namelijk na een positieve MA-test en een negatieve cystoscopie dan bleken ze enige tijd later toch een recidieftumor te hebben ontwikkeld. In de longitudinale analyse in figuur 20 zien we dat de voorspellende waarde van twintig naar meer dan tachtig procent klimt als de urines positief blijven.

De MA-test heeft daarom een voorspellende waarde. Zoals hierboven al werd opgemerkt, is al langer bekend dat cystoscopie niet 100% van alle tumoren kan aantonen. Dat bleek ook uit dit onderzoek, want als we de resultaten van een positieve MA-test meedeelden aan de uroloog werden daarna beduidend meer tumoren gevonden dan wanneer de uitslag voor de uroloog niet bekend was en ging de cross-sectionele sensitiviteit van de MA-test omhoog naar 70%. Verder vonden we dat de microsatelliettest gevoeliger was bij patiënten die geen *FGFR3*-mutatie in hun tumor hadden en/of rookten. Dit komt omdat deze tumoren genomisch instabiel zijn zoals uit ander onderzoek is gebleken<sup>11,17</sup>. De MA-test is dan een goede test om deze tumoren aan te tonen. De meeste tumoren die werden gemist met de MA-test waren kleine laaggradige Ta tumoren, maar ook een T1 graad 3-tumor. Daarentegen werden vier tumoren van de urineleiders met de MA-test gedetecteerd die niet zichtbaar waren bij de cystoscopie. De conclusies uit deze studie zijn, dat meerdere positieve MA-testen een sterke voorspeller zijn van een recidief blaastumor, maar dat de gevoeligheid nog kan worden verbeterd.

Concluderend kunnen we zeggen dat communicatie van de testuitslag belangrijk is. De sensitiviteit van de test neemt dan toe tot 70%. Inmiddels hebben we de urine DNAs ook onderzocht met de *FGFR3* test. Hieruit blijkt dat de *FGFR3* test beter is voor patiënten met een *FGFR3* mutatie in hun eerste tumor, terwijl de MA test beter is voor patiënten die geen *FGFR3* mutatie in hun tumor hebben. Met beide testen detecteren we ook recidieftumoren in de hogere urinewegen. Op grond van de resultaten denken we dat een beleid met zowel urinetesten gecombineerd met minder frequente cystoscopieën een beter resultaat zal geven en prettiger is voor de patiënt.

## Therapeutische mogelijkheden gebaseerd op genetische veranderingen

**E**r zijn de laatste jaren steeds meer therapieën op de markt gekomen die gericht zijn op de veranderde moleculen in de cel, met als meest spectaculair voorbeeld gleevec dat het BCR-ABL fusie-eiwit remt en nu het geneesmiddel is voor chronische



myeloïde leukemie. De verwachting is dat we de komende jaren meer van deze therapieën tegemoet kunnen zien en we uiteindelijk toe zullen gaan naar een periode van personalized medicine oftewel maatwerktherapie. Langzamerhand is er ook belangstelling vanuit de farmaceutische industrie voor blaaskanker. Een aantal bedrijven heeft stoffen ontwikkeld die de *FGFR3* receptor kunnen remmen en we hopen dat we daar in Rotterdam in de nabije toekomst mee aan de slag kunnen.

## Samenvattend

**I**k heb u hopelijk duidelijk gemaakt dat kanker een bijzonder complexe ziekte is. We kennen tientallen verschillende vormen van kanker, afhankelijk van het weefsel waarin ze ontstaan. Er zijn honderden verschillende genen in het DNA die een rol kunnen spelen bij kanker. Bij de ene vorm van kanker zijn weer andere genen betrokken dan bij een ander type. Kortom, we hebben hier niet met één ziekte te maken. Kanker is dus een verzamelnaam voor honderden zo niet duizenden minder of meer op elkaar lijkende ziekteprocessen. We hopen dat er in de toekomst meer therapieën ontwikkeld zullen worden die zijn gebaseerd op de veranderde moleculen in de kankercellen. Kortom, er is nog een hoop te doen. Maar onderzoek is duur en het is te hopen dat er voldoende geld voor op tafel komt.

### Onderwijs

**I**k wil hier ook graag de gelegenheid te baat nemen om iets te zeggen over het Onderwijs aan studenten geneeskunde wat betreft de moleculaire pathologie. Gezien het feit dat kanker de belangrijkste doodsoorzaak is, dat er steeds meer ex-kankerpatiënten zijn en dat er steeds meer nieuwe therapieën zullen komen die een veranderd eiwit aanvallen, is het mijns inziens van groot belang dat de studenten kennis nemen van al deze zaken. Daarom is enige uitbreiding van dit onderwijs gewenst. We hebben nu de kans om dat te veranderen omdat momenteel de bachelor-master structuur wordt ingevoerd in ons curriculum en de diverse onderwijsblokken, oftewel thema's, worden vernieuwd. Een ander ding dat mij van het hart moet is het volgende. Tot en met het afgelopen academisch jaar werd dit onderwijs gegeven in het Thema Abnormale Celgroei. Dit is een weinig pakkende en niet zo duidelijke titel en ik stel voor dat we nu de gelegenheid te baat nemen om het nieuwe thema 2A de naam Oncologie te geven. Dan is tenminste duidelijk waar we het precies over hebben.

## Dankwoord

In de eerste plaats wil ik het College van Bestuur van de Erasmus Universiteit, de Raad van Bestuur van het Erasmus MC en de Vereniging Trustfonds van de Erasmus Universiteit bedanken voor het in mij gestelde vertrouwen en het instellen van mijn leerstoel.

De oud-decaan Professor Paul van der Maas en het hoofd van de afdeling Pathologie Professor Wolter Oosterhuis wil ik graag bedanken voor hun inspanningen om deze leerstoel gerealiseerd te krijgen.

Dan ga ik terug in de tijd naar het begin van mijn carrière als wetenschapper. Daarbij is de ondersteuning van Professor John Bol, mijn promotor, van zeer groot belang geweest. John ik ben bijzonder blij dat jij en Nel hier vandaag bij kunnen zijn.

Toen ik een kleine 20 jaar geleden mijn eerste pogingen ondernam om mijn eigen werkgroep te beginnen was de steun van Professor Dick Bootsma onontbeerlijk. Beste Dick, ik dank je daarvoor hartelijk, alsmede voor je blijvende betrokkenheid bij mijn werk.

Professor Fre Bosman, voormalig hoofd van de afdeling Pathologie dank ik ook voor zijn nimmer aflatende interesse in mijn werk en voor zijn adviezen. Fre, ik ben heel blij dat jij en Tineke hiervoor helemaal uit Lausanne zijn gekomen.

Vanuit Toronto is Professor Theo van der Kwast hierheen gekomen. Theo we hebben een uitstekende samenwerking, al is die nu vaak telefonisch en per e-mail, ik hoop dat we hier nog lang mee door mogen gaan.

Ik wil ook graag alle medewerkers van de afdeling Pathologie bedanken voor hun belangstelling. In het bijzonder wil ik noemen Dr. Adriaan Houtsmuller en Dr. Arno van Leenders waar ik intensief mee samenwerk.

Verder wil ik graag Dr. Wim Kirkels en Professor Chris Bangma van de Afdeling Urologie bedanken en Professor Ewout Steyerberg van de Afdeling Gezondheidswetenschappen. Al deze samenwerkingsverbanden zijn cruciaal want wetenschappelijk onderzoek anno de 21<sup>ste</sup> eeuw is multidisciplinair.

En heel belangrijk, onderzoek is teamwerk. Daarom wil ik de huidige leden van mijn groep nadrukkelijk bedanken voor hun toewijding. Ik ben ook erg blij dat diverse oud-promovendi, postdocs en analisten hier vandaag bij zijn en wil benadrukken dat ook zij een essentiële rol hebben gespeeld.

Onderzoek doen is duur en werkgroepvoerders zijn een groot deel van hun tijd kwijt aan het verkrijgen van financiële steun. Het onderzoek in mijn groep is in de loop der jaren ondersteund door instanties zoals Erasmus MC, KWF Kankerbestrijding, de Association for International Cancer Research (Verenigd Koninkrijk), de National Neurofibromatosis Foundation (Verenigde Staten van Amerika), De Stichting Vanderes, de Nederlandse organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek, de Josephine Nefkens Stichting, de Daniel den Hoedstichting en de Europese Unie (FP7). Zonder deze steun hadden we niet zoveel kunnen bereiken.

Lieve vrienden, het is fantastisch dat jullie hier in zo groten getale naar toe zijn gekomen. Ik ben zeer vereerd.

Ik weet zeker dat mijn vader hier apetrots had gezeten als hij het nog had kunnen meemaken. Gelukkig is mijn moeder er, en kan ik haar danken voor de mogelijkheden die mijn ouders me hebben geboden. Mijn broers, schoonzussen, neven en nichten: jullie zijn een essentieel onderdeel van mijn leven en ik vind het heerlijk als we onder het genot van een goed glas weer eens lekker kunnen kletsen. Mijn hele schoonfamilie dank ik voor hun niet-aflatende support, ik kom al zo lang bij jullie over de vloer dat ik me helemaal een lid van de familie voel.

Tenslotte, mijn steun en toeverlaat Jan Willem. Naar mijn idee de slimste man in de wereld. Wat ben ik blij dat ik jou al in de collegebanken heb kunnen strikken. Ik dank je voor al je hulp en heel erg voor je geduld met zo'n eigenwijze echtgenote.

Ik heb gezegd.



## Referenties

- <sup>1</sup> Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.* 2008 Mar-Apr;58(2):71-96.
- <sup>2</sup> Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science.* 2001 Feb 16;291(5507):1304-51.
- <sup>3</sup> Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001 Feb 15;409(6822):860-921.
- <sup>4</sup> Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000 Jan 7;100(1):57-70.
- <sup>5</sup> Jones S, Zhang X, Parsons DW, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. *Science.* 2008 Sep 26;321(5897):1801-6.
- <sup>6</sup> Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science.* 2008 Sep 26;321(5897):1807-12.
- <sup>7</sup> Kiemeny LA, Witjes JA, Verbeek AL, Heijbroek RP, Debruyne FM. The clinical epidemiology of superficial bladder cancer. Dutch South-East Cooperative Urological Group. *Br J Cancer.* 1993 Apr;67(4):806-12.
- <sup>8</sup> Knowles MA. Molecular pathogenesis of bladder cancer. *Int J Clin Oncol.* 2008 Aug;13(4):287-97.
- <sup>9</sup> van Oers JM, Lurkin I, van Exsel AJ, Nijsen Y, van Rhijn BW, van der Aa MN, et al. A simple and fast method for the simultaneous detection of nine fibroblast growth factor receptor 3 mutations in bladder cancer and voided urine. *Clin Cancer Res.* 2005 Nov 1;11(21):7743-8.
- <sup>10</sup> van Rhijn BW, van der Kwast TH, Vis AN, Kirkels WJ, Boeve ER, Jobsis AC, et al. FGFR3 and P53 characterize alternative genetic pathways in the pathogenesis of urothelial cell carcinoma. *Cancer Res.* 2004 Mar 15;64(6):1911-4.
- <sup>11</sup> van Rhijn BW, Smit M, van Geenen D, Wijnmaalen A, Kirkels WJ, van der Kwast TH, et al. Surveillance with microsatellite analysis of urine in bladder cancer patients treated by radiotherapy. *Eur Urol.* 2003 Apr;43(4):369-73.
- <sup>12</sup> van Oers JM, Zwarthoff EC, Rehman I, Azzouzi AR, Cussenot O, Meuth M, et al. FGFR3 Mutations Indicate Better Survival in Invasive Upper Urinary Tract and Bladder Tumours. *Eur Urol.* 2008 Jun 13.
- <sup>13</sup> van der Aa MN, Steyerberg EW, Sen EF, Zwarthoff EC, Kirkels WJ, van der Kwast TH, et al. Patients' perceived burden of cystoscopic and urinary surveillance of bladder cancer: a randomized comparison. *BJU Int.* 2007 Sep 20.
- <sup>14</sup> Steiner G, Schoenberg MP, Linn JF, Mao L, Sidransky D. Detection of bladder cancer recurrence by microsatellite analysis of urine. *Nat Med.* 1997 Jun;3(6):621-4.
- <sup>15</sup> van Rhijn BW, Lurkin I, Kirkels WJ, van der Kwast TH, Zwarthoff EC. Microsatellite analysis--DNA test in urine competes with cystoscopy in follow-up of superficial bladder carcinoma: a phase II trial. *Cancer.* 2001 Aug 15;92(4):768-75.
- <sup>16</sup> van der Aa MN, Zwarthoff EC, Steyerberg EW, Boogaard MW, Nijsen Y, van der Keur KA, et al. Microsatellite Analysis of Voided-Urine Samples for Surveillance of Low-Grade Non-Muscle-Invasive Urothelial Carcinoma: Feasibility and Clinical Utility in a Prospective Multicenter Study (Cost-Effectiveness of Follow-Up of Urinary Bladder Cancer Trial [CEFUB]). *Eur Urol.* 2008 May 15.
- <sup>17</sup> Junker K, van Oers JM, Zwarthoff EC, Kania I, Schubert J, Hartmann A. Fibroblast growth factor receptor 3 mutations in bladder tumors correlate with low frequency of chromosome alterations. *Neoplasia.* 2008 Jan;10(1):1-7.



*Deze publicatie betreft een oratie aan  
de Erasmus Universiteit Rotterdam*

ISBN 97-89077906-57-6

