



# KIJKEN IN HET DNA VAN DE TUMORCEL EN VERDER

Prof. Dr. W.N.M. Dinjens

**KIJKEN IN HET DNA VAN DE TUMORCEL  
EN VERDER**

Oplage 750  
Omslagfoto Shelley Trustfull | Canon  
Ontwerp de Studio | Canon  
Druk Meermedia | Canon

# KIJKEN IN HET DNA VAN DE TUMORCEL EN VERDER

## REDE

In verkorte vorm uitgesproken  
ter gelegenheid van het aanvaarden  
van het ambt van bijzonder hoogleraar  
Moleculair Diagnostische Pathologie  
aan het Erasmus MC, faculteit van de  
Erasmus Universiteit Rotterdam  
op 13 september 2019

door

**WINAND N.M. DINJENS**

ISBN 978-94-914-6245-0

© Prof. Dr. W. N.M. Dinjens, oratiereeks Erasmus MC  
13 september 2019

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).

*Meneer de rector magnificus,  
Leden van het college van bestuur van de Erasmus Universiteit Rotterdam,  
Leden van de raad van bestuur van het Erasmus MC, Universitair Medisch Centrum Rotterdam,  
Leden van de Wetenschappelijke Adviesraad Erasmus MC Foundation - Daniel den Hoed,  
Geachte collega's, studenten, vrienden en familie,  
Dames en Heren,*

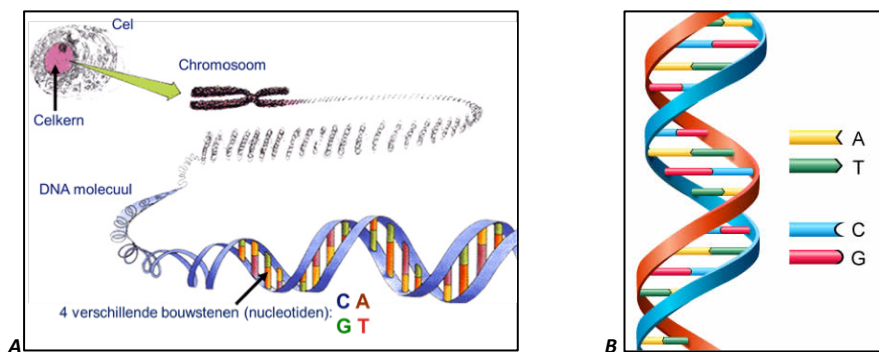
*Hartelijk welkom.*

## **Inleiding**

In deze rede wil ik u aan de hand van een voorbeeld uit de praktijk graag het belang en de ontwikkeling van de moleculair diagnostische pathologie laten zien bij de behandeling van patiënten met kanker. Maar eerst zal ik de achtergrond van de moleculaire bepalingen proberen te schetsen en na bespreking van het voorbeeld zal ik afsluitend mijn verwachtingen geven voor toekomstige ontwikkelingen binnen dit vakgebied.

De mens is opgebouwd uit organen en weefsels en die zijn weer opgebouwd uit cellen. Er is berekend dat het menselijk lichaam zo'n 37 biljoen ( $37 \times 10^{12}$ , 37 miljoen x miljard) cellen bevat waarvan de rode bloedcellen 25 biljoen uitmaken. Rode bloedcellen hebben geen celkern, alle andere cellen wel en het menselijk lichaam bestaat dus uit zo'n 12 biljoen cellen met een celkern<sup>1</sup>. De meeste cellen worden in meer of mindere mate tijdens het leven vervangen waarbij er een balans is tussen celdood en het aanmaken van cellen.

In de celkern bevindt zich het erfelijk materiaal, DNA, opgeslagen in chromosomen. In elke celkern van een lichaamscel bevinden zich 46 chromosomen waarvan er 23 afkomstig zijn van de moeder en 23 van de vader. Het DNA is een dubbelstrengs molecuul opgebouwd uit vier bouwstenen (nucleotiden) A, T, C en G die aan elkaar gekoppeld zijn (Figuur 1). Het DNA in elke lichaamscel bestaat uit 12 miljard nucleotiden, dat aantal uitgeprint met voor elk nucleotide één letter vormt een boek van 150 meter dik!



Figuur 1. A: Schematische weergaven van cel met celkern, chromosoom en DNA molecuul. B: Schematische weergave van DNA molecuul. DNA bestaat uit 2 strengen en elke DNA streng is opgebouwd uit vier verschillende bouwstenen (nucleotiden) A, T, C en G.

In het DNA ligt de informatie (recepten) opgeslagen, de genen, voor het maken van eiwitten. Totaal heeft de mens zo'n 22.000 genen en in elke kern van een lichaamscel zijn van elk gen 2 kopieën aanwezig, één afkomstig van de moeder en één afkomstig van de vader. De genen maken zo'n 3% van het DNA uit dus alle genen samen vormen binnen het totale DNA van een cel een boek van ongeveer 5 meter dik.

Het DNA van ieder mens is uniek (behalve van eenzijdige tweelingen) en met behulp van DNA onderzoek kan bijvoorbeeld individuele identificatie worden uitgevoerd en bloedverwantschap worden bepaald.

Tijdens het leven treden fouten (mutaties) op in het DNA. Voorbeelden van veel voorkomende mutaties zijn: op één specifieke plaats in het DNA kan het daar aanwezige nucleotide vervangen worden door een ander nucleotide of op een positie in het DNA kunnen één of meerdere nucleotiden verdwijnen uit, of juist toegevoegd worden aan, het DNA. Die mutaties in het DNA ontstaan bijvoorbeeld door zonlicht, roken, blootstelling aan asbest, maar ook door veroudering en celdeling.

Je zou kunnen zeggen dat het optreden van mutaties in het DNA niet te vermijden (wel te beperken, roken!) is en het gevolg is van leven. De meest voorkomende mutaties zijn veranderingen van één nucleotide op één specifieke positie in het DNA. Als zo'n mutatie optreedt in een gen kan dat tot verandering van het eiwit leiden dat van dat gen gemaakt wordt (Figuur 2).



Figuur 2. Een gedeelte van het Epidermale Groei-Factor Receptor (EGFR) gen (DNA) en eiwit is aangegeven. In het (eiwit)coderende deel van het DNA (gen) coderen steeds 3 nucleotiden (codon) voor de inbouw in het eiwit van één aminozuur. De samenstelling van de drie nucleotiden in elk codon bepaalt welk van de 20 verschillende aminozuren in het eiwit ingebouwd wordt. Een eiwit bestaat uit een streng aminozuren die elk afzonderlijk aangeduid worden met een **LETTER** en een **CIJFER**. De **LETTER** geeft aan welk aminozuur het betreft en het **CIJFER** geeft de positie van het aminozuur in het eiwit aan. Dus in de figuur: deel van het Epidermale Groei-Factor Receptor (EGFR) gen (DNA) en EGFR eiwit schematisch weergegeven. Eerste en derde regel: nucleotide volgorde in het gen, tweede en vierde regel: aminozuur volgorde in het eiwit. Het codon 858 CTG codeert voor aminozuur L op die plaats in het EGFR eiwit. Dit is de situatie in normaal DNA (uit normaal weefsel). In de tumorcellen is in het EGFR gen een mutatie opgetreden (van één nucleotide), codon CTG wordt CGG, waardoor op eiwit positie 858 geen L maar een R aminozuur wordt ingebouwd (mutatie wordt weergegeven als **L858R**). Hierdoor wordt het EGFR eiwit ontregeld en hyperactief en stimuleert daardoor continu de celdeling wat bijdraagt aan het ontstaan van de tumor.

Het eiwit kan dan door de mutatie verhoogde of juist verlaagde activiteit hebben ten opzichte van het normale, niet-gemuteerde eiwit. Als voorbeelden: mutatie in een gen kan leiden tot stimulatie van de celdeling, tot het inactiveren van de rem op de celdeling of tot inactivatie van mechanismen die tot celdood leiden. Mutaties kunnen dus leiden tot verhoging van de delingsactiviteit van de cel en kunnen er voor zorgen dat de cel niet meer afsterft. Vaak is er een combinatie van beide mechanismen aanwezig in tumorcellen.

Kortom, mutaties in het DNA van een cel kunnen aanleiding geven tot ongebreidelde en kwaadaardige uitgroei van die cel (kanker). Het huidige kankerbiologie dogma is dan ook:

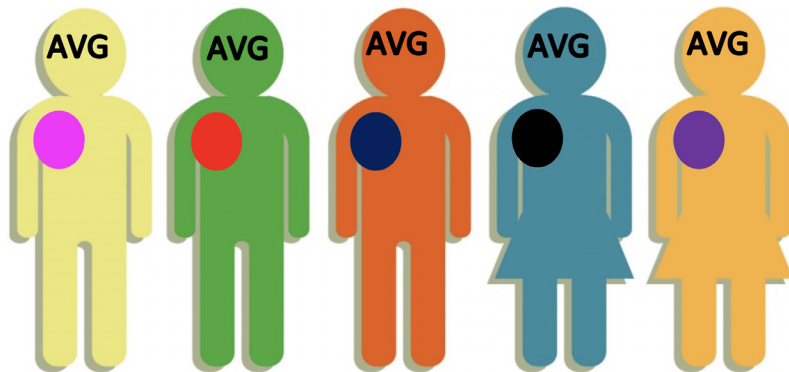
### Kanker is een ziekte van het DNA

waarmee wordt bedoeld dat fouten (mutaties) in de genen leiden tot afwijkingen in eiwitten (te veel, te weinig, te actief of inactief) waardoor de cel maar blijft delen en/ of niet meer dood gaat.

Uit wetenschappelijk onderzoek aan grote series tumoren (meer dan 1 miljoen) is aangetoond dat van de 22.000 genen ruim 700 genen zogenaamde kankergenen zijn: door het optreden van mutaties in die genen dragen zij effectief bij aan het ontstaan van kanker<sup>2</sup>. Verder is berekend en gebleken dat een kanker cel zo'n 2 tot 8 relevante mutaties in het DNA heeft. Dit zijn mutaties in specifieke genen (kankergenen) waardoor de normale cel getransformeerd wordt in een tumorcel<sup>3</sup>.

Naast mutaties die er voor zorgen dat de tumor ontstaat hebben tumorcellen veel niet-relevante mutaties in hun DNA, variërend van minder dan 10 tot meer dan 1 miljoen. Meer dan 90% van alle tumoren heeft minder dan 30.000 mutaties<sup>4</sup>.

Zoals het DNA van elk mens verschillend is, is het DNA van elke tumor ook verschillend, dat wil zeggen dat de combinatie van mutaties in tumoren, ook van zeer vergelijkbare kankers, nooit 100% dezelfde is.



Figuur 3. Vijf patiënten met hetzelfde type longkanker: alle 5 de patiënten hebben verschillend normaal DNA en alle 5 de tumoren hebben (deels) verschillende mutaties in hun DNA.

Deze bevindingen hebben er toe geleid dat moleculair diagnostische pathologie, waaronder DNA onderzoek van tumoren, belangrijk is geworden bij de routine diagnostiek en behandeling van patiënten met kanker. Aan optimale behandeling van de patiënt met kanker gaat optimale diagnostiek vooraf.

Diagnostische problemen waarbij de moleculaire diagnostiek steeds frequenter een belangrijke bijdrage levert zijn:

1. Is een gezwel kwaadaardig of goedaardig?
2. Welke tumor is het precies: typen hersentumoren, lymfeklierkanker, weke delen tumoren?
3. De patiënt heeft meer dan één tumor: betreft dit één tumor met uitzaaiingen of meerdere onafhankelijke tumoren?
4. Het is duidelijk welke tumor de patiënt heeft maar hoe kan of moet de tumor behandeld worden in de individuele patiënt?

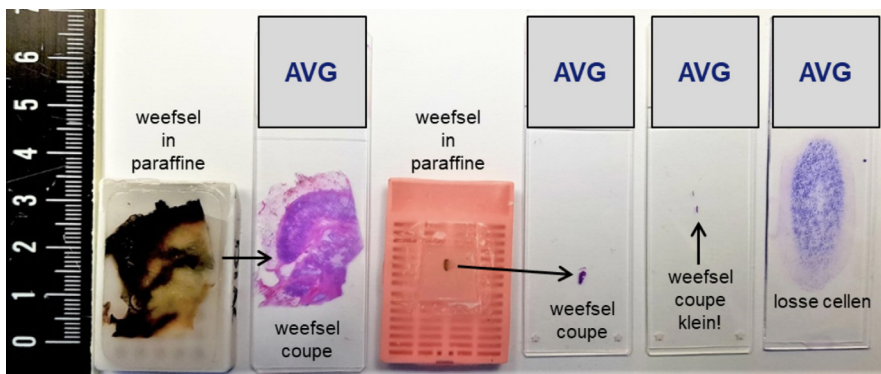
Vooral deze laatste toepassing van de moleculaire diagnostiek is de laatste jaren steeds belangrijker geworden: behandeling van tumoren gebaseerd en gericht op aan- of afwezigheid van specifieke DNA mutaties in de individuele tumor. Dit geldt thans met name voor longkanker, dikke darmkanker, melanoom (kwaadaardige pigmentcellen), eierstokkanker en een aantal meer zeldzame tumortypen. We spreken dan van doelgerichte therapie, gepersonaliseerde behandeling, geïndividualiseerde behandeling of precisiebehandeling. Deze diagnostiek zal zich de komende jaren ongetwijfeld verder uitbreiden onder meer vanwege de verwachting dat doelgerichte therapieën beschikbaar komen voor meer typen tumoren. Tevens verwacht ik toename van de moleculaire diagnostiek vanwege de noodzaak om per tumor uitgebreider te testen (meer mutaties) om aan- of afwezigheid van combinaties van mutaties aan te tonen die van belang zijn voor toepassing van doelgerichte therapie.

Om DNA mutaties in tumorcellen te kunnen detecteren hebben we tumorcellen cq tumorweefsel nodig. Voor de mutatie-analyses gebruiken we tumorweefsels en tumorcellen die routinematig, voor diagnostische of therapeutische doeleinden, bij een patiënt zijn verwijderd. De weefsels worden standaard in formaline (sterkwater) gefixeerd en in paraffine (kaarsvet) ingesloten. Hiervan worden dunne plakjes (coupes, dikte 1/250 mm) gesneden die op glaasjes worden geplakt en na één of meerdere kleuringen gebruikt worden voor microscopische beoordeling door een patholoog. Van afgenomen losse cellen in suspensie wordt vaak rechtstreeks een microscopisch preparaat gemaakt. Door dit microscopisch onderzoek kan de patholoog in de meeste gevallen een diagnose stellen (is het gezwel kwaadaardig?; welke tumor is het precies?; is er ingroei in het omliggende weefsel, bloedvaten, etc.?; en zijn er uitzaaiingen in lymfeklieren en/of andere organen?).



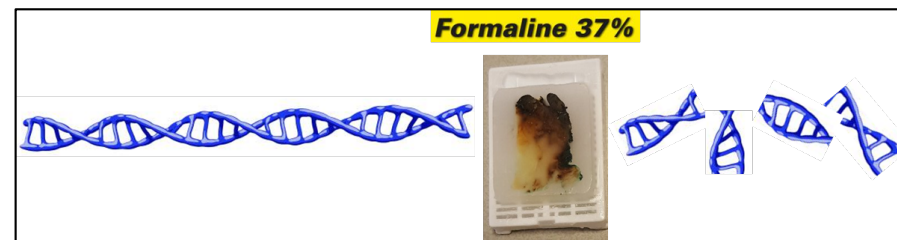
De hiervoor beschreven tumormaterialen worden ook gebruikt voor moleculair onderzoek, voornamelijk voor DNA mutatie-analyse. Hierbij doen zich drie uitdagingen voor: **weinig, slecht, onzuiver**:

1. **Weinig.** Om de belasting voor de patiënt te beperken worden steeds kleinere (enkele mm) tumorweefselbipten afgenomen en steeds frequenter zelfs alleen maar losse cellen. Vanwege dit beperkte uitgangsmateriaal gebruiken we technologie om mutaties in heel weinig DNA gevoelig aan te kunnen tonen. Zo kunnen we betrouwbare resultaten verkrijgen afkomstig van enkele honderden cellen, regelmatig alleen nog maar aanwezig in de microscopische preparaten (coupes) die voor routine diagnostiek zijn gebruikt (Figuur 4). Om de moleculaire analyse van enkele honderden cellen in perspectief te plaatsen: een gezwell van één kubieke millimeter bevat zo'n 1 miljoen cellen.



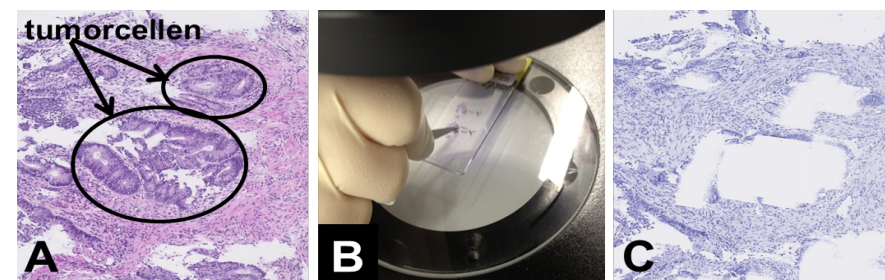
Figuur 4. Materialen die gebruikt worden voor DNA isolatie en moleculaire diagnostiek. Weefsels na fixatie in formaline ingebed in paraffine; weefselcoupes, op glaasjes aangebracht en gekleurd (microscopische preparaten), van grote en kleine weefselfragmenten en een cytologiepreparaat bestaande uit gekleurde losse cellen.

2. **Slecht.** Door fixatie in formaline van het afgenomen weefsel is het DNA van slechte kwaliteit, dat wil zeggen dat de DNA moleculen sterk gefragmenteerd zijn (Figuur 5). Voordat het DNA geanalyseerd kan worden moet het vermeerderd worden. Door specifieke vermeerdering van korte DNA fragmenten (korter dan 200 nucleotiden) kunnen we de DNA mutatie-analyse toch betrouwbaar uitvoeren.



Figuur 5. Schematische weergave van effect van formaline fixatie op de kwaliteit van het DNA (fragmentatie).

3. **Onzuiver.** Een tumor bestaat nooit volledig uit kwaadaardige cellen, in het gezwell bevinden zich ook normale cellen (afweer-, bindweefsel-, bloedvatcellen, etc.) met normaal, niet-gemuteerd, DNA. Uit tumorweefsel geïsoleerd DNA is dus onzuiver: het betreft een mengsel van DNA afkomstig uit de tumorcellen en DNA afkomstig uit normale cellen. Om mutaties zo betrouwbaar mogelijk aan te kunnen tonen wordt veel aandacht besteed aan het selectief schrappen, vanaf microscopische preparaten (weefselcoupes of cytologiepreparaten), van weefselgebieden met een hoog percentage tumorcellen (Figuur 6). Het DNA dat hieruit wordt geïsoleerd bevat dus een hoger percentage tumor (mutant) DNA, waardoor de aanwezige mutaties betrouwbaarder kunnen worden aangetoond. Technologie maakt DNA mutatie detectie mogelijk met een gevoeligheid tot ongeveer 1% (dat wil zeggen dat in 100 moleculen de aanwezigheid van 1 mutant molecuul kan worden gedetecteerd).



Figuur 6. A en C microscopische opnamen van tumorweefsel. A: vóór schrappen van de weefselgebieden met veel tumorcellen en C: na schrappen. B: schrappen onder een microscoop.

## Een voorbeeld uit onze praktijk

Aan de hand van een routine aanvraag voor moleculaire diagnostiek wil ik onze werkwijze illustreren.

Een vrouw van 57 jaar met longklachten, onderging in 2008 een longscan en weefselbiopten van de tumor werden afgenomen. Mede op grond van routine pathologie diagnostiek was de diagnose: stadium IIIA (cT2bN2Mo) niet-kleincellig longcarcinoom, type adenocarcinoom. Ik gebruik hiervoor verder de term longkanker.

De patiënte met gediagnosticeerde longkanker werd behandeld met chemo- en radiotherapie. Drie jaren later, in 2011, toen de tumorhaarden weer bleken te groeien werd gestart met palliatieve chemotherapie. Haar levensverwachting werd toen ingeschat op maximaal 1 jaar.

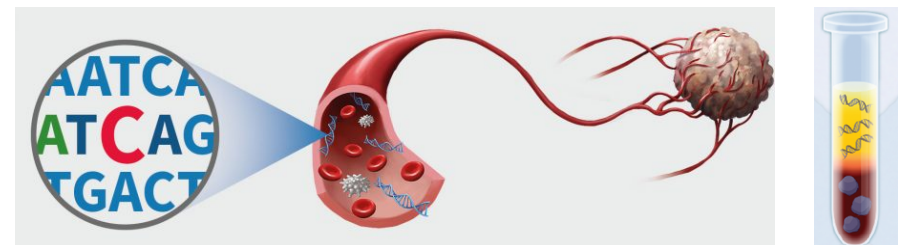
Het 3 jaren eerder afgenomen en bewaarde tumorweefsel is in 2011 gebruikt voor DNA mutatie analyse. Er werd in het tumor DNA een bekende activerende EGFR mutatie gevonden, L858R, in 56% van het DNA (zie Figuur 2). Deze activerende mutatie zorgt waarschijnlijk voor de groei van de longkankercellen. Door deze bevinding is de patiënte behandeld met het doelgerichte medicijn erlotinib, een remmer van activerende EGFR mutaties, waardoor de tumorcellen stoppen met delen (helaas niet allemaal doodgaan). Door erlotinib behandeling groeide de tumor aanvankelijk niet verder.

Drie jaren later, in 2014, bleek uit een scan dat de tumor weer aan het groeien was en werd er cytologie (losse cellen) afgenomen. Dit cytologiepreparaat bleek voor slechts een klein percentage longkankercellen te bevatten. Toch zijn deze afgenomen cellen ook moleculair onderzocht. Er werd opnieuw de eerdere EGFR L858R mutatie gevonden in 1,3% van het DNA. Tevens werd een tweede EGFR mutatie, T790M, in 1,1% van het DNA aangetoond (Figuur 7). Deze EGFR T790M mutatie is een bekende mutatie die optreedt bij erlotinib behandeling en die er voor zorgt dat de tumorcellen ongevoelig (resistent) worden voor erlotinib en dus weer kunnen gaan groeien. Tegen de EGFR T790M mutatie was net ook een specifieke remmer, osimertinib, beschikbaar gekomen en de patiënte werd hiermee behandeld.

normaal	DNA	- - ACG - CAG - CTC - ATG - CCC - TTC - GGC - TGC - - -
	eiwit	1 - T790 - Q791 - L792 - M793 - P794 - F795 - G796 - C797 - -1210
tumor	DNA	- - ATG - CAG - CTC - ATG - CCC - TTC - GGC - TGC - - -
	eiwit	1 - T790M - Q791 - L792 - M793 - P794 - F795 - G796 - C797 - -1210

Figuur 7. Na behandeling met erlotinib (doelgerichte therapie) van de longtumor met een EGFR L858R mutatie is resistentie ontstaan. In afgenomen cytologie (losse cellen) werd toen de EGFR T790M resistentie mutatie aangetoond. Behandeling werd voortgezet met osimertinib, een doelgerichte therapie tegen de resistente T790M mutatie.

In 2016 (dus weer twee jaren later) werd opnieuw groei van de tumor geconstateerd. Tumorweefsel of losse cellen konden niet afgenomen worden en dus was verder moleculair onderzoek aanvankelijk niet mogelijk. Echter, er was net een nieuwe analyse techniek experimenteel beschikbaar gekomen die het mogelijk maakt het DNA uit de tumorcellen in bloed aan te tonen. Achtergrond hiervan is dat tumorcellen afsterven en uit elkaar vallen waardoor hun DNA (met de mutaties) in het bloed terecht komt (Figuur 8). We noemen dit DNA, dat niet-celgebonden in het bloed voorkomt, celvrij DNA en dit bestaat meestal voor slechts een heel klein deel uit DNA afkomstig van de tumorcellen. De grootste hoeveelheid celvrij DNA is afkomstig uit afgestorven normale cellen. In bloed kan dus de verhouding tumor (mutant) DNA t.o.v. normaal DNA nog veel ongunstiger zijn dan in weefsels of losse cellen en hebben we analyses nodig die 1 molecuul mutant DNA betrouwbaar kunnen opsporen in duizend moleculen normaal DNA (0,1% gevoeligheid). Moderne technologie maakt dit, onder een aantal voorwaarden, in principe mogelijk.



Figuur 8. Door afsterven van tumorcellen komt hun (gemuteerd) DNA in het bloed terecht (celvrij DNA) waar het met zeer gevoelige bepalingen aangetoond kan worden.



In overleg met de behandelaars werd besloten deze nog niet gevalideerde en experimentele celvrij DNA analyse uit te voeren op afgenomen bloed van deze patiënte. In het bloed werden beide eerder aangetoonde EGFR mutaties (L858R en T790M) opnieuw gevonden; de EGFR L858R mutatie in 3,7% van het DNA en T790M in 3,5%. Tevens vonden we nu ook een EGFR C797S mutatie in 1,6% van het DNA (Figuur 9) en dit is een bekende EGFR mutatie die de cellen resistent maakt voor behandeling met osimertinib. Dus deze 3e EGFR mutatie was waarschijnlijk de oorzaak van de groei van de tumor onder osimertinib behandeling. Er waren toen helaas geen verdere behandelopties meer beschikbaar en de patiënte is een klein jaar later overleden.

normaal	DNA	--	ACG	-	CAG	-	CTC	-	ATG	-	CCC	-	TTC	-	GGC	-	TGC	-	---
	eiwit	1-	T790	-	Q791	-	L792	-	M793	-	P794	-	F795	-	G796	-	C797	-	-1210
tumor	DNA	--	ATG	-	CAG	-	CTC	-	ATG	-	CCC	-	TTC	-	GGC	-	TCC	-	---
	eiwit	1-	T790M	-	Q791	-	L792	-	M793	-	P794	-	F795	-	G796	-	C797S	-	-1210

Figuur 9. Na behandeling met osimertinib (doelgerichte therapie) van de tumor met de EGFR T790M resistentie mutatie is opnieuw resistentie ontstaan. In het bloed werd toen de EGFR C797S mutatie aangetoond (T790M en C797S mutaties aanwezig in hetzelfde EGFR DNA- en eiwitmolecuul, dat wordt in cis genoemd) die ervoor gezorgd heeft dat de tumor resistent voor osimertinib behandeling is geworden.

Bovenstaand voorbeeld uit onze praktijk laat zien dat de patiënte door doelgerichte therapieën toegepast op basis van de resultaten van moleculair diagnostische pathologie (waarschijnlijk) zo'n 5 jaren langer heeft geleefd dan bij de conventionele (standaard) behandeling van haar ziekte.

## Is dit het volledige verhaal?

Het antwoord op deze retorische vraag is uiteraard: nee.

In de onderzochte tumor werden in het verloop van de tijd drie verschillende EGFR mutaties gedetecteerd in verschillende percentages: weefsel uit 2008: L858R in 56%, cytologie uit 2014: L858R in 1,3% en T790M in 1,1% en bloed uit 2016: L858R in 3,7%, T790M in 3,5% en C797S in 1,6%. Deze percentages geven aan dat deze drie EGFR mutaties uitsluitend in de tumorcellen voorkomen en niet in normale cellen.

Echter, wat ik nog niet aangegeven heb is dat in alle drie de analyses ook een EGFR V834L variant (afwijking) werd gevonden (Figuur 10).

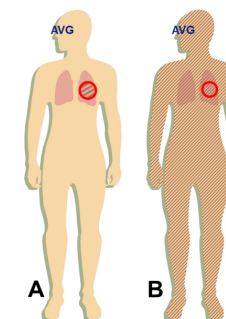
normaal	DNA	--	CGT	-	CGC	-	TTG	-	GTG	-	CAC	-	CGC	-	GAC	-	----
	eiwit	1-	R831	-	R832	-	L833	-	V834	-	H835	-	R836	-	D837	-	-1210
normaal	DNA	--	CCT	-	CGC	-	TTG	-	CTG	-	CAC	-	CGC	-	GAC	-	----
patiënte	eiwit	1-	R831	-	R832	-	L833	-	V834L	-	H835	-	R836	-	D837	-	-1210

Figuur 10. Normaal EGFR DNA en eiwit met op positie 834 het aminozuur V. De patiënte heeft in haar normale cellen (DNA) een EGFR V834L mutatie. Dit duidt op mogelijke erfelijkheid en grote kans op longkanker bij bloedverwanten met deze mutatie.

Deze variant was niet eerder in de literatuur beschreven, maar er werden aanwijzingen verkregen dat dit ook een ziekmakende (pathogene) EGFR mutatie is. Deze laatste mutatie, EGFR V834L, werd in alle drie de analyses in ongeveer 50% van het DNA aangetoond (Tabel 1). Dit is een aanwijzing dat deze mutatie in alle cellen (ook de normale!) van de patiënt aanwezig is en duidt op erfelijkheid (Figuur 11). Dus wellicht hebben bloedverwanten van deze patiënte deze mutatie ook en dus grote kans op het ontwikkelen van longkanker.

	EGFR L858R	EGFR T790M	EGFR C797S	EGFR V834L
2011 Weefsel (biopt)	56%	0%	0%	53%
2014 Cytologie (losse cellen)	1,3%	1,1%	0%	51%
2016 Bloed (celvrij DNA)	3,7%	3,5%	1,6%	48%

Tabel 1. Resultaat moleculaire diagnostiek mutatie analyses uit 2011 (weefsel uit 2008), 2014 en 2016.



Figuur 11. Twee patiënten met longkanker. Patient A, sporadische (niet erfelijke) tumor: pathogene mutaties zijn uitsluitend in de tumor aanwezig. Patiënt B, erfelijke tumor: één pathogene mutatie is aanwezig in alle cellen van het lichaam en er is dan grote kans dat deze mutatie ook in bloedverwanten voorkomt.

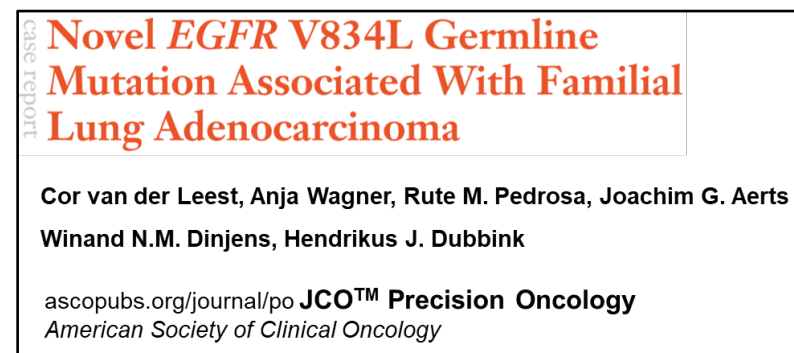
De patiënte werd verwezen naar de afdeling Klinische Genetica voor erfelijkheidsadvies en ze heeft daarvan gebruik gemaakt. Bij het familie-onderzoek werden 20 bloedverwanten in kaart gebracht, waarvan vier op relatief jonge leeftijd longkanker hadden ontwikkeld (op 42, 46 en twee op 57 jarige leeftijd). Onderzoek naar aanwezigheid van de EGFR V834L mutatie kon worden uitgevoerd bij 15 in leven zijn de bloedverwanten door bloed onderzoek en bij 3 van de 5 overleden bloedverwanten door onderzoek van weefsel dat bewaard is in Pathologielaboratoria. Alle vier de bloedverwanten met longkanker bleken de EGFR V843L mutatie te hebben in hun DNA. Tevens werden één bloedverwant geïdentificeerd die deze mutatie ook heeft maar gelukkig (nog) geen longkanker heeft ontwikkeld. Deze bloedverwant wordt nu regulier onderzocht om mogelijk optreden van longkanker in een vroeg stadium te diagnosticeren. Verder kunnen toekomstige bloedverwanten nu relatief eenvoudig getest worden en bij aanwezigheid van de EGFR V834L mutatie reguliere testen ondergaan voor longkanker.

## Wat illustreert dit voorbeeld?

Bovenstaand voorbeeld uit onze moleculair diagnostische pathologie geeft een groot aantal karakteristieken van deze diagnostiek aan:

1. Samenwerking met behandelaars waaronder, longartsen en oncologen die aanvragen voor moleculaire diagnostiek doen.
2. In samenwerking met vrijwel alle onderdelen van de afdeling Pathologie (secretariaat, laboratoria voor histologie en cytologie, weefselbank, Pathology Research and Trial Service (PARTS), Pathologie research laboratoria, pathologen en laboratorium voor moleculaire diagnostiek) worden de moleculaire analyses uitgevoerd. De Erasmus MC afdeling Pathologie, inclusief het laboratorium voor moleculaire diagnostiek, is sinds 2011 ISO 15189 2012 geaccrediteerd.
3. Gevoelige (tot 1%) gevalideerde DNA mutatie analyses worden uitgevoerd, deels op eerder afgenomen weefsel dat bewaard is in Pathologielaboratoria
4. Resultaten worden besproken in multidisciplinair overleg (MDO) en leiden tot onderbouwde behandelopties.
5. Zeer gevoelige (tot 0,1%) DNA analyse in bloed wordt uitgevoerd, in samenwerking met de afdelingen Interne Oncologie en Klinische Chemie. Ten tijde van het voorbeeld was dit een nieuwe experimentele bepaling die in ons laboratorium nog niet gevalideerd was maar, in afstemming met de behandelaars, toch werd gebruikt. Wat betreft deze laboratoriumbepaling sta ik daar volledig achter, zeker in een academische setting mag het huidige niet de vijand van het nieuwe zijn. De resultaten zijn gerapporteerd onder vermelding van: resultaat is verkregen met een (nog) niet gevalideerde bepaling.
6. Door het diagnostisch onderzoek werd aanwijzing verkregen voor mogelijke erfelijkheid van de longkanker bij deze patiënte en haar bloedverwanten.

7. Middels samenwerking met de afdeling Klinische Genetica werd de familie in kaart gebracht. EGFR mutatie analyse werd uitgevoerd bij bloedverwanten in bloed en in eerder afgenomen weefsels die bewaard zijn in Pathologielaboratoria. Er wordt aan huidige en toekomstige bloedverwanten met de kiembaanmutatie regulier onderzoek naar longkanker aangeboden.
8. Van deze casus hebben wij een wetenschappelijk artikel gepubliceerd<sup>5</sup> (Figuur 12) met als doel onze werkwijze te demonstreren voor de behandeling van patiënten met longkanker en artsen te attenderen op de mogelijkheid dat longkanker erfelijk kan zijn.



Figuur 12. Publicatie van het beschreven voorbeeld.

9. Dit voorbeeld van onze moleculaire diagnostiek wordt gebruikt in een college binnen het Erasmus MC curriculum. Dit college wordt gegeven door 3 docenten, longarts Prof. Dr. Joachim Aerts, longpatholoog Dr. Jan von der Thüsen en door mij als moleculair bioloog.
10. Deze relatief nieuwe pathologie diagnostiek (moleculaire diagnostiek) heeft geleid tot een nieuwe discipline binnen de Pathologie, de Klinisch Moleculair Bioloog in de Pathologie, afgekort KMBP. De KMBP maakt integraal onderdeel uit van de Nederlandse Vereniging voor Pathologie (NVvP) en de NVvP heeft als richtlijn dat bij het uitvoeren van moleculaire diagnostiek tenminste toegang tot KMBP expertise beschikbaar moet zijn. Er is een tweejarige opleiding opgezet voor KMBP, inclusief accreditatie en visitatie en er zijn op dit moment 33 geregistreerde KMBP en 8 KMBP in opleiding. Ik ervaar het als een voorrecht onderdeel te mogen uitmaken van de KMBP, een (pro)actieve groep met open samenwerkingen en afstemmingen in veel facetten van de moleculair diagnostische pathologie (nieuwe bepalingen en toepassingsgebieden, apparatuur, bio-informatica, controles, kwaliteit, scholing, vergoeding, inschaling, etc.).

## REGISTRATIECOMMISSIE KLINISCH MOLECULAIR BIOLOOG IN DE PATHOLOGIE

### Is dit voorbeeld alleen positief?

1. Een vraag die laatste tijd steeds vaker bij bovenstaande activiteiten wordt gesteld is: betreft dit diagnostiek (patiëntenzorg) of onderzoek (research)? Achterliggende motief voor deze vraag is dat eigenlijk alleen de standaard bepalingen die we aanbieden uitgevoerd zouden moeten worden en geen extra of nieuwe analyses. Een en ander vooral in verband met de veronderstelde kosten van de analyses. Ik vind dat we met bovenstaand voorbeeld goede academische patiëntenzorg hebben geleverd die volledig past binnen de uitspraak van de voorzitter van de Raad van Bestuur van het Erasmus MC, Prof. Dr. E.J. Kuipers: *“Binnen de (Erasmus MC) patiëntenzorg is een toenemende focus op patiënten met hoogcomplexere problematiek met behoefte aan topreferente en innovatieve medische zorg. Daar zijn we voor als universitair medisch centrum.”*
2. Uit wetenschappelijk onderzoek is gebleken dat in de Verenigde Staten 8% van alle patiënten met kanker in aanmerking komt voor doelgerichte therapie (therapie gericht op DNA afwijkingen). En slechts 4% van alle patiënten met kanker baat heeft bij doelgerichte therapie<sup>6</sup>. Ik denk dat deze percentages zullen stijgen, maar toch.....
3. Het wordt mijns inziens onvoldoende onderkend dat moleculair diagnostische pathologie veel meer is dan het doen van een gevoelige moleculaire bepaling en het rapporteren van de resultaten. Voor goede moleculair diagnostische pathologie is integratie van een groot aantal karakteristieken cruciaal. Ik noem er een aantal: hoe is weefsel/bloed afgenomen, hoe is weefsel/bloed bewerkt, wat is samenstelling van het weefsel, wat is de diagnose, hoe zijn de moleculaire resultaten gegenereerd, wat is de kwaliteit van de resultaten, welke datafiltering is toegepast, is de mutatie annotatie correct, passen de resultaten bij het tumortype, passen de resultaten van één tumor onderling bij elkaar, zijn er meerdere aanwijzingen voor *afwezigheid* van specifieke mutaties, passen de resultaten bij eerdere resultaten van dezelfde tumor, passen de resultaten bij de heersende concepten en verwachting, is bij het interpreteren van de resultaten rekening gehouden met moleculaire heterogeniteit binnen de tumor, eerdere behandeling van de tumor, weefsel- en technische artefacten, kiembaan DNA afwijkingen, polymorfismen, pseudogenen, copy number variations, etc, etc.

### Financiering

De bekostiging van de moleculaire diagnostiek is onduidelijk en vaak niet opgenomen in de totale behandelkosten. De situatie is dat toepassingsgebieden en technologie van de moleculaire diagnostiek in een continue en snelle ontwikkeling zijn. Dit alles ten behoeve van de beste patiëntenzorg. Echter, de financiering van het opzetten en implementeren van deze diagnostiek loopt daarbij ernstig achter.

#### Een overzicht:

Kennis over het vóórkomen en de functie van specifieke mutaties wordt standaard verkregen uit basaal wetenschappelijk onderzoek en analyse van grote series vergelijkbare tumoren. Op basis van deze onderzoeksresultaten ontwikkelen fabrikanten van geneesmiddelen remmers van de specifieke mutaties en deze medicijnen worden dan getest in klinische trials met patiënten met kanker. Zoals ook uit het boven beschreven voorbeeld blijkt is voor het aantonen van de werkzaamheid (effectiviteit) van het geneesmiddel de juiste patiënt (tumor!) selectie cruciaal (erlotinib werkt alleen in EGFR gemuteerde longkanker, niet in longkanker zonder EGFR mutatie). Hiervoor is technologie ontwikkeld om mutaties zeer gevoelig in tumoren te kunnen bepalen, om de juiste patiënten te kunnen selecteren die waarschijnlijk baat hebben bij de behandeling.

Al deze onderdelen: kennis over werkingsmechanisme, vóórkomen in specifieke tumortypen, gevoelige DNA analyse en beschikbaarheid van geneesmiddel zijn nodig om de therapie zinvol bij geselecteerde patiënten te kunnen toepassen.

Wat betreft de kankergeneesmiddelen zijn deze frequent in de belangstelling vanwege de kosten, vaak meerdere tienduizenden euro's per patiënt per jaar. Hoe reëel deze prijzen zijn weet ik niet. Strategie van de overheid is dat nieuwe dure geneesmiddelen waarvan effectiviteit is aangetoond in de zogenaamde sluis terecht komen, waarna, na onderhandeling over de prijs en toepassingsgebied, de geneesmiddelen uit de sluis komen en via de verzekerde zorg worden vergoed.

Echter, zoals boven geschetst, is voor toepassing van geneesmiddelen in de oncologie vaak ook dure diagnostiek nodig, zogenaamde companion diagnostics: het middel mag alleen toegediend worden als de juiste diagnostiek (selectie van de patiënt) heeft plaatsgevonden. Het is vreemd dat de kosten van deze diagnostiek geen onderdeel uitmaken van de boven aangegeven vergoedingssystematiek. Het betreft namelijk, inherente en vanwege de aantallen, dure diagnostiek. Stel dat per longtumor EGFR mutatie analyse €1000 kost en 10% van de longkankers een EGFR mutatie heeft. Dan is de eerlijke berekening dat er dus 10 longkankers getest moeten worden om één tumor met een EGFR mutatie te vinden. In dit voorbeeld moeten we dus gemiddeld €10.000 aan diagnostiek besteden om één patiënt met een EGFR doelgerichte therapie te kunnen behandelen.

Het zou goed zijn als bij de toelating van nieuwe geneesmiddelen tot de verzekerde zorg de kosten van de diagnostiek integraal hierbij meegenomen worden. De praktijk nu is dat financiering van deze diagnostiek jaren achterloopt bij het toelaten van het medicijn. Hier ligt een belangrijke taak voor vele betrokkenen: klinici die de diagnostiek aanvragen voor hun patiënten, uitvoerders van de diagnostiek, betrokken beroepsverenigingen en samenwerkingsverbanden (Nederlandse Vereniging voor Pathologie (NVvP), Nederlandse Vereniging voor Medische Oncologie (NVMO), Stichting Oncologische Samenwerking (SONCOS), Nederlandse Federatie van Universitair Medische Centra (NFU), etc.), ziekenhuisdirecties, zorgverzekeraars en de overheid.

## Verwachtingen voor de toekomst

1. Een steeds groter gedeelte van het tumor DNA zal onderzocht gaan worden (steeds meer genen, alle genen, het gehele DNA). Wij onderzoeken nu per tumor ongeveer 1/20.000 gedeelte van het totale DNA (0,005%, boek van minder dan 1 cm dik). Bij onderzoek van het gehele tumor DNA, waarbij elke afzonderlijke nucleotide positie in het DNA bijvoorbeeld 100x wordt geanalyseerd, levert dat aan uitgeprinte resultaten een boek van 7,5 km dik op. Per tumor! Het is duidelijk dat analyse en opslag van de resultaten hierbij nog grote uitdagingen vormen<sup>7</sup>.
2. Analyse van normaal DNA, van de patiënt waarvan de tumor onderzocht wordt, zal uitgevoerd gaan worden. De combinatie, per patiënt, van analyse van tumor DNA en normaal DNA levert meer betrouwbare tumor mutatie-resultaten op. Tevens kan analyse van normaal DNA ook informatie opleveren die rechtstreeks van belang is voor de doelgerichte behandeling van de patiënt<sup>8</sup>. Ik verwacht dat er (op korte termijn) een werkbare modus wordt gevonden betreffende de ethische aspecten die met deze diagnostiek samenhangen.
3. Doelgerichte therapie zal beschikbaar komen voor steeds meer kankersoorten, dus moleculaire analyse zal voor meer tumoren worden uitgevoerd.
4. Doelgerichte therapie wordt niet alleen toegepast bij aanwezigheid van een mutatie in één specifiek gen, maar zal ook toegepast gaan worden bij aanwezigheid van combinaties van mutaties en bij specifieke mutatie-patternen<sup>4</sup>.
5. Het is niet alleen van belang te bepalen welke mutaties in een tumor voorkomen maar het wordt (is) ook van belang het *aantal* mutaties per tumor te bepalen, bijvoorbeeld voor behandeling met immuuntherapie<sup>9</sup>.
6. Naast het aantonen van mutaties in het DNA zal het voor diagnostiek en behandeling ook belangrijk worden andere DNA veranderingen in de tumor te bepalen (amplificatie en verlies van delen van het DNA, methylering van DNA, etc.)<sup>10</sup>.
7. Moleculaire analyse van tumor-specifieke kenmerken zal steeds meer in bloed en andere lichaamsvochten worden uitgevoerd, vooral voor doelgerichte therapie en voor ziekte-monitoring en deels ook als primaire diagnostiek.
8. Het aantonen van mutaties in tumoren zal deels ook uitgevoerd gaan worden middels RNA analyse<sup>7</sup>. In tumorcellen worden vaak grote delen van het DNA van de ene positie verplaatst naar een andere positie in het DNA. Wanneer bij die DNA verplaatsingen genen betrokken zijn kunnen zogenaamde fusiegenen worden gevormd, die ook kunnen bijdragen aan het ontstaan van een tumor. RNA is een van DNA afgeleid molecuul en bij analyse van RNA kan naast afwijking in de nucleotiden volgorde ook de effectieve vorming van fusiegenen aangetoond worden.
9. De samenstelling (bepaald met DNA onderzoek) van de bacteriën in de darmen (microbioom) kan van invloed zijn op het effect van (doelgerichte) behandeling<sup>11</sup>. DNA analyse van de darmflora zal waarschijnlijk onderdeel gaan uitmaken van de moleculaire diagnostiek.
10. Door microscopisch weefselonderzoek kan de patholoog al ruim honderd jaar bepalen of er kwaadaardige tumorcellen aanwezig zijn in het weefsel. Door middel van beeldanalyse, deep learning en artificial intelligence kan “de computer” dit inmiddels ook, tot op zekere hoogte<sup>12</sup>. Een recente ontwikkeling is dat “de computer” aan de hand van een microscopische opname van tumorweefsel kan bepalen welke moleculaire mechanismen (waaronder bijvoorbeeld een EGFR mutatie) ten grondslag liggen aan het ontstaan van die individuele tumor<sup>13</sup>. En inmiddels zijn er ook ontwikkelingen dat “de computer” op basis van een scan (dus zonder wefselafname) de in de tumor aanwezige moleculaire mechanismen kan voorspellen (radiomics)<sup>14</sup>.
11. Vrees niet, sta open voor nieuwe ontwikkelingen! Bovenstaande en andere toekomstige ontwikkelingen betreffen vooruitgang. En zoals de geschiedenis leert zal ook voor deze ontwikkelingen waarschijnlijk gelden, dat indien ze voor de patiëntenzorg van waarde blijken te zijn, ze aan de diagnostiek zullen worden toegevoegd als uitbreiding en maar beperkt als vervanging van bestaande diagnostiek.

## DANKWOORD

Ik dank het bestuur van het Erasmus MC voor mijn benoeming op de leerstoel moleculair diagnostische pathologie en ik dank de Wetenschappelijke Adviesraad van de Erasmus MC Foundation - Daniel den Hoed voor het instellen van deze leerstoel en mijn voordracht daarvoor. Ik ben zeer vereerd, maar zie deze benoeming ook als erkenning van het belang van dit nieuwe vakgebied, moleculair diagnostische pathologie, door het Erasmus MC.

De respectievelijke afdelingshoofden Pathologie van het Erasmus MC de hooggeleerden Fré Bosman, Wolter Mooij, Wolter Oosterhuis en Folkert van Kemenade dank ik voor het in mij gestelde vertrouwen en de vrijheid die ik heb gekregen dit vakgebied te ontwikkelen. Vrijheid is de grootste verantwoordelijkheid die je kan krijgen.

Geachte professor Bosman, beste Fré, ik zie vandaag als een bekroning van wat in 1985 bij jou in Maastricht is begonnen.

Hooggeleerde van Kemenade, beste Folkert, dank dat je mijn benoeming actief in gang hebt gezet.

Het is uit het boven beschreven voorbeeld hopelijk duidelijk dat in de academische moleculaire diagnostiek, patiëntenzorg (diagnostiek) en onderzoek (research) een continuüm vormen waarbij de scheidslijn tussen beide vaak niet te trekken is. Op dat grensvlak van diagnostiek en onderzoek werken is wat mij betreft bij uitstek onze academische taak, ons bestaansrecht. Diagnostiek leidt regelmatig tot verder onderzoek en onderzoek leidt regelmatig tot betere diagnostiek.

Daarom wil ik ook in dit dankwoord geen onderscheid maken tussen samenwerkingen binnen de diagnostiek en het onderzoek. En dit betreft zeer vele samenwerkingen, teveel om allemaal op te noemen, ja, dat komt ervan als je geen focus aanbrengt in je activiteiten!

Voor het opzetten en uitvoeren van onze innovatieve moleculaire diagnostiek is samenwerking met de farmaceutische industrie en met ontwikkelaars van apparatuur en bepalingen onmisbaar. Dank voor die samenwerkingen.

Dank voor de al vele jaren bestaande samenwerkingen en het mogen leveren van KMBP expertise en scholing aan Pathologielaboratoria in de regio Zuid-West Nederland. Open samenwerkingen zowel wat betreft diagnostiek als onderzoek. Het betreft laboratoria voor Pathologie Pathan, Rotterdam en Pal, Dordrecht en van: Amphia Ziekenhuis,

Breda; Elisabeth-TweeSteden Ziekenhuis, Tilburg; Maasstad Ziekenhuis, Rotterdam; Bravis ziekenhuis, Bergen op Zoom & Roosendaal; HagaZiekenhuis, Den Haag; DDL, Rijswijk en binnenkort gaan wij ook KMBP expertise leveren voor Hartwig Medical Foundation, Amsterdam. Dank voor het in ons gestelde vertrouwen. De stimulerende samenwerkingen met de afdelingen Pathologie van het LUMC, Leiden en Antoni van Leeuwenhoek, Amsterdam, mogen niet onvermeld blijven.

Mijn dank gaat uit naar alle medewerkers van de afdeling Pathologie van het Erasmus MC. De moleculaire diagnostiek werd aanvankelijk gezien als een soort research, niet echt van belang voor de patiëntenzorg. Die tijd ligt gelukkig ver achter ons en het is ontzettend stimulerend om integraal onderdeel uit te maken van een afdeling die nu als één geheel staat voor het leveren van excellente en innovatieve diagnostiek.

Dr. Anja Wagner en haar collega's van de Klinische Genetica dank voor de, al meer dan twee decennia lange, samenwerking op het gebied van erfelijke kanker, met name erfelijke darm- en borstkanker. Dit is een onbaatzuchtige en vruchtbare samenwerking zowel wat betreft diagnostiek als wetenschappelijk onderzoek. De Klinische Genetica – Pathologie samenwerking is een mooi voorbeeld van kruisbestuiving tussen verschillende disciplines en tussen diagnostiek en onderzoek.

Prof. Dr. Ronald de Krijger, voormalig collega van de Erasmus MC afdeling Pathologie, mooie en vruchtbare jaren in onderzoek en diagnostiek bij pheochromocytomen en paragangliomen liggen achter ons. Met het vertrek van jou en de keuzes in de patiëntenzorg die zijn gemaakt is deze onderzoekslijn beëindigd. Laat onverlet dat de diagnostiek die uit dit onderzoek is voortgekomen nu standaard bij ons en ook elders wordt toegepast en tot verbetering van de patiëntenzorg leidt.

Prof. Dr. Hugo Tilanus, Dr. Bas Wijnhoven en Prof. Dr. Jan van Lanschot van de afdeling Heelkunde. Jarenlange stimulerende samenwerking binnen het slokdarmtumoronderzoek met veel successen. Het is mooi om onze expertises opgedaan in de diagnostiek ook voor het onderzoek te kunnen inzetten.

Hooggeleerde Tilanus, beste Huug, meer dan 12 jaren geleden heb jij deze dag in gang gezet. Het heeft zeker niet aan jou gelegen dat dit 12 jaren heeft geduurd. Bedankt daarvoor.

Dank voor de samenwerking in het kader van de doelgerichte behandeling van patiënten met longkanker. Ik noem de longartsen Prof. Dr. Joachim Aerts, Dr. Marthe Paats en Dr. Annette Bijsmans. Mijn collega's en ik kijken elke dinsdagmiddag uit naar het longoncologie multidisciplinair overleg. Geweldig om onderdeel te mogen zijn van zo'n betrokken en enthousiaste groep behandelaars.



Elke vrijdag kijken wij ook uit naar het fase 1 overleg van de afdeling Interne Oncologie, een echt academische bijeenkomst waar de nieuwste (moleculaire) bevindingen en behandelmogelijkheden voor individuele (met standaard therapie uitbehandelde) patiënten worden besproken. Dank voor de stimulerende samenwerking met de afdeling Interne Oncologie. Klinische samenwerking met Prof. Dr. Stefan Sleijfer, Dr. Ferry Eskens en Dr. Martijn Lolkema en pre-klinische samenwerking met Prof. Dr. John Martens en Dr. Maurice Jansen. Voor de celvrij DNA analyses hebben wij ook constructieve en plezierige samenwerking met de afdeling Klinische Chemie, Prof. Dr. Ron van Schaik en Evert de Jonge, bedankt.

Als laatste wil ik graag noemen de fantastische samenwerking met de subafdeling neuro-oncologie, Prof. Martin van den Bent en zijn collega's. Onder de bezielende en stimulerende inbreng van Martin en in nauwe afstemming met de neuropathologen Prof. Dr. Max Kros en Dr. Rob Verdijk, zijn wij in 2012 gestart met uitgebreide moleculaire diagnostiek bij hersentumoren. In 2016 is deze vorm van diagnostiek opgenomen in de richtlijn van de wereldgezondheidsorganisatie (WHO). Ik ben er trots op dat wij als Erasmus MC vier jaren vooruitliepen op deze mondiale richtlijn. Martin bedankt.

Genereren van moleculaire data is één, betrouwbare analyse van die data twee! Bio-informatica ondersteuning is dan ook onmisbaar. Ik dank de betrokken bio-informatica collega's: Dr. Harmen van de Werken, Dr. Andrew Stubbs, David van Zessen, Bas Horsman en Dr. Arne Ijpma.

Dan ben ik bij het laboratorium voor moleculaire diagnostiek aangekomen. In het voorgaande heb ik een aantal malen het belang aangegeven van het beschikbaar hebben van apparatuur om mutaties gevoelig aan te kunnen tonen. Echter, de diagnostische bepalingen bereiken pas het door ons nagestreefde excellente niveau door het creatief en innovatief opzetten van de bepalingen en dito gebruik van de apparatuur. Ik vind het geweldig dat het hele team daaraan elke dag weer bijdraagt en dank hen daarvoor. Het team bestaat uit de analisten Lotte Berger, Albertina Dirkx-van der Velden, Marit de Haan, Vera Martens, Isabelle Meijssen, Laura Moonen, Hein Sleddens, Dorine den Toom, Ludo Uytdewilligen, Carolina Valente, Walter Voogt en Linda Klooster (die vanaf maandag a.s. ons team komt versterken) en bio-informaticus Niels Krol en secretaresse Margot van den Akker.

De moleculaire diagnostiek is constant in ontwikkeling wat betreft toepassing en technologie. Dat zal de komende jaren zeker het geval blijven. Om de gewenste ontwikkelingen en innovaties door te kunnen blijven voeren zijn de senioranalisten Ronald van Marion en Peggy Atmodimedjo van onschatbare waarde. Ik ben er van overtuigd dat het diagnostische-niveau dat wij met het laboratorium realiseren

zonder de expertise, creativiteit en inzet van Ronald en Peggy niet bereikt zou zijn. Mijn dank aan Peggy en Ronald is groot.

Wij leiden de eerste KMBP op die ook de opleiding tot patholoog volgt, Dr. Floris Groenendijk. Floris maakt overduidelijk dat gedegen inhoudelijke en praktische kennis van beide vakgebieden een grote meerwaarde heeft voor beide disciplines. Met de betrokkenheid van patholoog Dr. Jan von der Thusen bij de moleculaire diagnostiek is de afstand tot de clinici verkleind en is de positionering van het laboratorium, zowel binnen als buiten de eigen afdeling, verbeterd. Jan bedankt daarvoor.

De collega KMBP, Dr. Erik Jan Dubbink, Dr. Ina Geurts-Giele, Dr. Esther Korpershoek. Dank voor jullie inzet en betrokkenheid die deels onzichtbaar blijven. We zijn een goed team met een open, positief kritische en proactieve opstelling naar elkaar en met een goed gevoel voor nieuwe ontwikkelingen en voor wat nodig en haalbaar is. Geweldig om met jullie te kunnen werken.

Vrienden en familie, fijn dat jullie hier zijn. Dank voor jullie belangstelling, betrokkenheid, steun en warmte, in mooie en minder mooie dagen.

Jacco, Kristel, Seth en Neeltje en Laurens, Janneke en Julie, dank dat Wil en ik deel mogen uitmaken van jullie levens.

Wil, bedankt. Voor alles.

Ik heb gezegd.

## Referenties

- <sup>1</sup>. Bianconi E et al. An estimation of the number of cells in the human body. *Ann Hum Biol.* 2013;40:463-471. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23829164>
- <sup>2</sup>. Sondka Z et al. The COSMIC cancer gene census: describing genetic dysfunction across all human cancers. *Nat Rev Cancer.* 2018;18:696-705. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30371878>
- <sup>3</sup>. Anandakrishnan R et al. Estimating the number of genetic mutations (hits) required for carcinogenesis based on the distribution of somatic mutations. *PLoS Comput Biol.* 2019;15:e1006881. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30845172>
- <sup>4</sup>. Alexandrov L et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature.* 2013;500:415-421. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23945592>
- <sup>5</sup>. Leest van der C et al. Novel EGFR V834L germline mutation associated with familial lung adenocarcinoma. *J Clin Oncol, Precision Medicine.* 2018, <https://ascopubs.org/doi/full/10.1200/PO.17.00266>
- <sup>6</sup>. Marquart J et al. Estimation of the percentage of US patients with cancer who benefit from genome-driven oncology. *JAMA Oncol.* 2018;4:1093-1098. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29710180>
- <sup>7</sup>. El-Deiry W et al. The current state of molecular testing in the treatment of patients with solid tumors, 2019. *CA Cancer J Clin.* 2019;69:305-343. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31116423>
- <sup>8</sup>. Liu S et al. Toxicity of targeted therapy: implications for response and impact of genetic polymorphisms. *Cancer Treat Rev.* 2014;40:883-891. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24867380>
- <sup>9</sup>. Samstein R et al. Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types. *Nat Genet.* 2019;51:202-206. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30643254>
- <sup>10</sup>. Davoli T et al. Tumor aneuploidy correlates with markers of immune evasion and with reduced response to immunotherapy. *Science.* 2017;355: eaaf8399. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28104840>
- <sup>11</sup>. Gopalakrishnan V et al. The influence of the gut microbiome on cancer, immunity, and cancer immunotherapy. *Cancer Cell.* 2018;33:570-580. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29634945>
- <sup>12</sup>. Litjens G et al. Deep learning as a tool for increased accuracy and efficiency of histopathological diagnosis. *Sci Rep.* 2016;6:26286. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27212078>
- <sup>13</sup>. Coudray N et al. Classification and mutation prediction from non-small cell lung cancer histopathology images using deep learning. *Nat Med.* 2018;24:1559-1567. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31116423>
- <sup>14</sup>. Jia T et al. Identifying EGFR mutations in lung adenocarcinoma by noninvasive imaging using radiomics features and random forest modeling. *Eur Radiol.* 2019;29:4742-4750. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30778717>



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

ISBN 978-94-914-6245-0