

VU Research Portal

DNA instabiliteit: de voors en tegens

Joenje, H.

2011

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

citation for published version (APA)

Joenje, H. (2011). *DNA instabiliteit: de voors en tegens*.

General rights

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

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

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

DNA instabiliteit: de voors en tegens

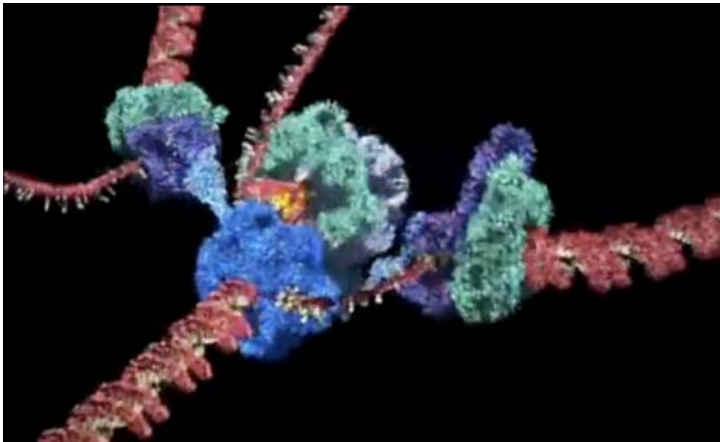
prof.dr. H. Joenje

Rede uitgesproken ter gelegenheid van zijn afscheid als hoogleraar Oncogenetica, in het bijzonder de chromosomale instabiliteit van kanker, aan de Vrije Universiteit Amsterdam/VU Medisch Centrum op 16 maart 2011.

Mijnheer de Rector, dames en heren,

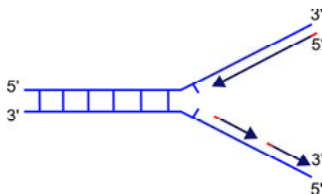
Let me first apologize to my colleagues and friends from abroad for the fact that this lecture will be in Dutch, which is according to tradition. So please don't feel obliged to stay awake if you rather feel like taking a little nap.

Sommigen van u zullen in het animatiefilmpje, dat zojuist te zien was, het proces van DNA verdubbeling hebben herkend: het proces dat zich afspeelt voordat een cel zich gaat delen.



Animatie van de DNA replicatievork, zie www.youtube.com. Zoekterm "DNA replication".

U keek naar wat genoemd wordt: een 'replicatievork'. Dit is de plek waar de DNA dubbele wenteltrap ('helix') zich ontwindt in twee strengen, die daarna afzonderlijk gekopieerd worden. Dit kopiëren wordt gedaan door eiwitten die daar speciaal voor zijn opgeleid, ook wel enzymen genoemd. En zij doen dit in een pittig tempo, met ongeveer 50 bouwstenen per seconde! In een menselijke cel zijn voor de celdeling vele duizenden van deze vorkjes bezig met dit kopieerproces, waardoor het kopiëren van de 6 miljard bouwstenen van het DNA in zo'n 8 uur is voltooid.



50 bouwstenen/sec

ca. 10.000 vorken per cel

8 uur

De DNA replicatievork

Bij de DNA verdubbeling, voorafgaand aan de celdeling, is alles er op gericht dat het kopiëren exact gebeurt. Maar desondanks kunnen er fouten in sluipen. De mogelijkheid tot het maken van vergissingen is blijkaar in de natuur ingebakken. Los van het feit, dat het kopieerproces zelf niet 100% foutloos verloopt, is er daarnaast ook nog een continu bombardement van agressieve stoffen die het DNA kunnen beschadigen. De aan het DNA toegebrachte schade wordt aan de lopende band hersteld, maar ook bij dit proces kunnen fouten ontstaan. Er zijn schattingen, dat het DNA na de verdubbeling gemiddeld zo'n tiental fouten heeft opgelopen, ook wel mutaties genoemd. Gezien de 6 miljard bouwstenen lijkt dit aantal verwaarloosbaar, maar toch kan elke mutatie op zich fataal uitpakken.

Mutaties in een geslachtscel (zaadcel of eicel) verhogen enerzijds de kans op erfelijke ziekten, maar aan de andere kant zijn mutaties in een geslachtscel noodzakelijk voor de overleving van een soort, omdat daardoor aanpassing aan veranderende omstandigheden en daarmee evolutie mogelijk is.

Mutaties die ontstaan tijdens het leven van het individu zijn overwegend nadelig, omdat zij kunnen leiden tot degeneratieprocessen, zoals bijvoorbeeld kanker. Kankercellen ontstaan dus door DNA instabiliteit. En na hun ontstaan vertonen ze ook nog eens een verhoogde DNA instabiliteit. Een tumor bestaat dan ook uit genetisch verschillende cellen. Hierdoor kan een tumor zich gemakkelijk aan veranderende omstandigheden aanpassen, waardoor helaas ook een grote kans bestaat op resistent worden tegen chemotherapie. Dit zijn dus de negatieve effecten van DNA instabiliteit.

Tegelijkertijd echter maakt de onderzoeker dankbaar gebruik van DNA instabiliteit. Deze geeft hem de mogelijkheid tumorcellen te kweken die resistent zijn tegen cytostatica (antikankermiddelen). Door de eigenschappen van deze cellen te bestuderen hoopt de wetenschap het probleem van resistentie bij kankercellen te tackelen.

Dit alles ter introductie van het verhaal dat ik u vandaag wil vertellen, een verhaal over mijn loopbaan als wetenschapper. Terugblikkend is het een spannend avontuur geweest, waarbij ik een grote mate van vrijheid heb gehad om de dingen te doen die ik boeiend vond.

Ik ga dit min of meer chronologisch doen.

1971-1975 (RU Groningen) Bacteriële genetica (PhD)

- Competentie voor DNA opname door de bacterie *Bacillus subtilis*.
[Competentie stimulerende factor: "Quorum-sensing hormone"]

1975-1977 (Cambridge, UK; Baltimore, V.S.)

- DNA replicatie *in vitro*: zuivering van DNA polymerase β van *Xenopus laevis*

1977-2011 (VU/VUmc Amsterdam)

- Fanconi anemie (FA)
- Zuurstof toxiciteit en –tolerantie (veroudering, kanker)
- Genetische basis van FA

In grijs weergegeven is het meest grijze verleden van mijn loopbaan. Dit bestond uit mijn promotieonderzoek in de bacteriële genetica en een postdocperiode in Engeland en de Verenigde Staten, waarna ik uiteindelijk belandde in Amsterdam.

1977-2011: eerst bij de VU, daarna bij het VU Medisch Centrum. Ruim 34 jaar binnen dezelfde afdeling Klinische Genetica (toen genaamd: de vakgroep Antropogenetica), gehuisvest in het gebouw Faculteit der Geneeskunde. Al 34 jaar kom ik het gebouw binnen via de achterdeur. Er zijn veel verbouwingen geweest, maar de deurknop is in al die tijd niet veranderd. Ik heb hem naar schatting ruim tien duizend keer aangeraakt. Dat klinkt misschien uitermate saai, maar ik heb me in al die jaren geen moment verveeld.

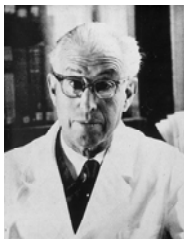


*De 'artiesteningang' van het gebouw
Faculteit der Geneeskunde*

De 3 thema's die aan de orde komen zijn:

- 5 jaar gewerkt aan de ziekte Fanconi anemie (FA), met name aan de rol van zuurstof hierbij;
- door deze rol geïntrigeerd geraakt, vervolgens 11 jaar gewerkt aan de toxische werking van zuurstof en hoe cellen zich hiertegen verdedigen (belangrijk in verband met veroudering en kanker);
- 18 jaar, tot op heden: weer gewerkt aan Fanconi anemie, maar nu op jacht naar de genen.

De ziekte Fanconi anemie.



Guido Fanconi, 1927



Fanconi anemie

Symptomen

- Groeiachterstand
- Skeletafwijkingen
- Verminderde vruchtbaarheid

Levensbedreigend:

- Beenmergfalen (aplastische anemie)
- Maligniteiten: AML, tumoren

•**Zeldzaam:** ca. 1 / 10⁵ geboortes
1-2 nieuwe patiënten/jaar in NL

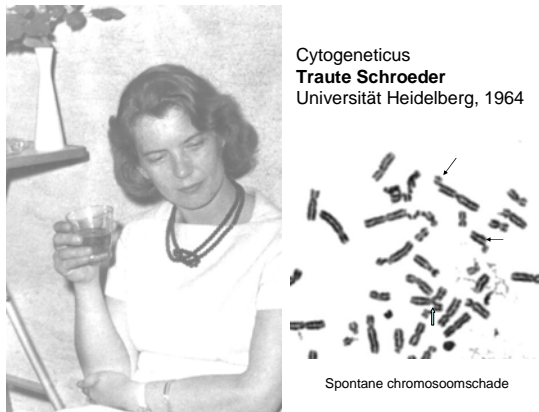
•**Recessief erfelijk**

In de 70er jaren wisten we van deze ziekte nog niet zo veel. Fanconi anemie was voor het eerst beschreven in 1927 door de Zwitserse kinderarts Guido Fanconi. De foto van het patiëntje is uit zijn eerste publicatie. De ziekte heeft als belangrijkste symptomen: groeiachterstand, skeletafwijkingen en verminderde vruchtbaarheid. Levensbedreigend zijn een zeer sterk verhoogde kans op kanker en het beenmergfalen dat leidt tot een tekort aan bloedcellen. Hierdoor is de levensverwachting van de patiënten sterk afgenomen.

Fanconi anemie komt wereldwijd voor en is uiterst zeldzaam. In Nederland worden er gemiddeld 1-2 nieuwe patiënten per jaar gediagnosticeerd.

De overerving is recessief, hetgeen wil zeggen, dat beide ouders drager zijn van een gemuteerd gen. Zelf hebben zij hier geen last van, maar hun kinderen hebben 25% kans om de ziekte te krijgen.

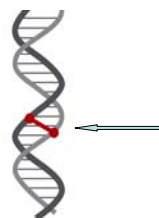
Na prof. Fanconi's eerste beschrijving van de ziekte, duurde het zo'n 40 jaar voordat er gepubliceerd werd over afwijkingen in de cellen van Fanconi anemie patiënten. Een belangrijke ontdekking werd in 1964 gedaan door Traute Schroeder in Heidelberg. Als cytogeneticus was zij gewend naar de chromosomen te kijken van patiënten en zij ontdekte dat de chromosomen van FA patiënten steeds spontaan breuken en verklevingen vertoonden, die bij gezonde personen zelden of nooit worden gezien. Sinds die ontdekking wordt FA ook wel een "chromosomaal breuksyndroom" genoemd.



Een volgende belangrijke waarneming werd 9 jaar later gedaan door de Japanse radiobioloog Masao Sasaki. Hij bestudeerde het effect van schadelijke chemische verbindingen op de chromosomen van FA patiënten. Hij vond dat de chromosoombreuken bij FA cellen extreem in aantal toenamen wanneer de cellen werden blootgesteld aan stoffen die een dwarsverbinding of 'cross-link' in het DNA veroorzaken. Deze schadelijke stoffen worden 'cross-linkers' genoemd. De extreme gevoeligheid voor cross-linkschade bij FA patiënten (zo'n 10 tot 100-voudige toename in gevoeligheid) heeft uiteindelijk geleid tot de 'chromosoombreuktest', die nog steeds geldt als de gouden standaard bij de diagnostiek van Fanconi anemie.



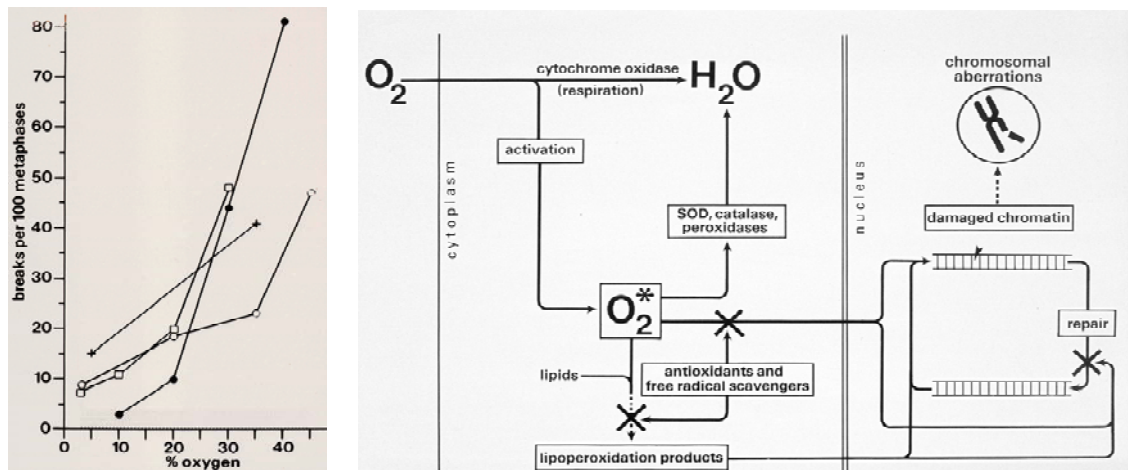
Radiobioloog
Masao Sasaki
Tokyo, Japan, 1973



FA cellen zijn vooral gevoelig voor stoffen, die een dwarsverbinding (cross-link) in het DNA veroorzaken.

In dezelfde tijd was ik naar Amsterdam gekomen en waren ook wij geïnteresseerd geraakt in Fanconi anemie, met name in de oorzaak van de chromosoombreuken. Mijn collega's Arwert, Frants en Eriksson hadden het idee dat een kort tevoren ontdekt enzym, superoxide dismutase, wellicht defect kon zijn bij FA patiënten. Dit is een enzym dat cellen beschermt tegen zuurstofschade. Nader onderzoek wees echter uit dat dit beschermende enzym bij FA patiënten normaal functioneerde.

We hadden nu slechts één mogelijk defect in de verdediging tegen zuurstofschade uitgesloten. Hiermee was voor mij de kous nog niet af - en ik besloot de verdediging van cellen tegen zuurstofschade tot speerpunt van mijn onderzoek te maken. Om die verdediging bij cellen op de proef te stellen zou je eigenlijk het beste kunnen beginnen met het veranderen van de zuurstofconcentratie in de omgeving van de cellen, om te zien of dit een effect heeft op de chromosoombreuken. Om dit te kunnen onderzoeken was het nodig aanpassingen in het lab te realiseren, aanpassingen die het mogelijk maakten cellen te kweken bij verschillende zuurstofspanningen. Zo gezegd, zo gedaan. En wat bleek: het aantal chromosoombreuken bij FA cellen was inderdaad afhankelijk van de concentratie zuurstof waaraan de cellen werden blootgesteld. U ziet dat bij hogere zuurstofconcentraties dan aanwezig in lucht (21%) er meer chromosoombreuken zijn, terwijl het aantal juist minder wordt bij een lagere zuurstofconcentratie.



Zuurstof als oorzaak van de 'spontane' chromosoombreuken bij FA (links). Rechts staat aangegeven hoe zuurstof chromosoomschade zou kunnen veroorzaken (uit: Joenje et al. Oxygen-dependence of chromosomal aberrations in Fanconi's anaemia. Nature 290; 142-143, 1981).

Dit was een ontdekking, die ons lange tijd heeft bezig gehouden. Zuurstof is nodig om te leven en tegelijkertijd is het toxisch en een bedreiging voor ons DNA.

We besloten deze ontdekking aan te bieden aan het tijdschrift Nature voor publicatie.

Na een aanvankelijke afwijzing en nog wat heftige briefwisselingen volgde alsnog publicatie. Hierin stond ook dit schemaatje waarin wordt aangegeven hoe O₂ chromosoomschade zou kunnen veroorzaken (zie afb. rechts). Ergens in dit schema moest dus het defect, dat de ziekte FA veroorzaakt, te vinden zijn.

We besloten ons te gaan concentreren op het verschijnsel zuurstoftoxiciteit.

Ik ben me uitgebreid gaan verdiepen in deze materie en ben tot bepaalde inzichten gekomen, die ik vandaag met u wil delen. Mijn visie is voor mijzelf uiteraard nogal vanzelfsprekend, maar het is me keer op keer gebleken, dat het lastig is om over te brengen. Ik ga het nog een keer proberen, want – om met Johan Cruijff te spreken: je gaat het pas zien als je het dóór heb! Ik hoop dat u het straks ook door heb...

Laten we bij het begin beginnen. Waar we over praten is de atmosferische zuurstof die wij allemaal nodig hebben om te overleven. Dit is O₂, een innige verbinding van twee atomen van het element zuurstof. Oorspronkelijk was er op deze planeet geen zuurstof in de atmosfeer. Er was water en de atmosfeer bestond voornamelijk uit stikstof en ook was er CO₂. Zuurstof ontstond pas door toedoen van de eerste plantaardige levensvormen, de blauwalgen. Het bladgroen van deze algen (chlorofyl) gebruikte de energie van zonlicht om de atomen waterstof en zuurstof, die samen het watermolecule H₂O vormen, van elkaar te scheiden. Dit alles om – samen met de CO₂ - koolwaterstoffen te genereren, nodig voor de groei en voortplanting. Hierbij kwam zuurstof als bijproduct in de atmosfeer terecht. Miljoenen jaren gingen voorbij en de hoeveelheid zuurstof in de atmosfeer nam gestaag toe. Tegenwoordig bestaat de atmosfeer voor ongeveer 21% uit zuurstof, en dat is een stabiele situatie, ook al is het in het grijze verleden hoger geweest, naar schatting zelfs zo'n 35%.

De zuurstof in onze atmosfeer vertegenwoordigt een geweldige bron van potentiële energie, omdat zuurstof niets liever wil dan de waterstof of beter gezegd: de electronen die door de chlorofylreactie zijn afgepakt, weer terug te pakken. En hier ligt ook het gevaar van omgaan met zuurstof: de heftigheid waarmee dit terugpakproces gepaard gaat. Gelukkig is O₂ een beetje lui, het moet over een drempel van zogenoemde 'activeringsenergie' gebracht worden. Zo heeft de open haard een lucifer nodig en een benzinemotor een vonk. Soms is een achteloos weggeworpen sigarettenpeuk oorzaak van een bosbrand, waarbij we ons dan realiseren dat zuurstof altijd en overal op de loer ligt om z'n kans te grijpen de eens ontnomen electronen terug te pakken. In het dagelijks leven wordt vaak vergeten, dat zuurstof - energetisch gezien – hierbij de drijvende

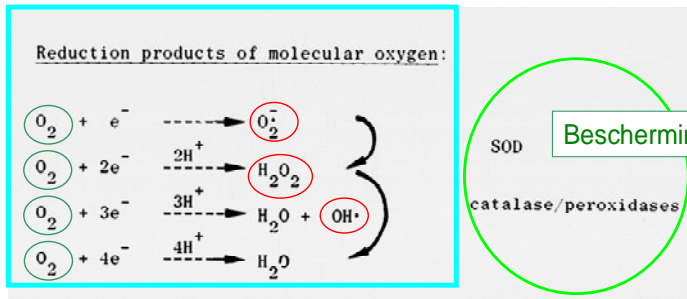
kracht is. U denkt misschien dat benzine de drijvende kracht is die uw auto in beweging brengt. Laat u niets wijs maken! Dat is maar schijn! Brandstof zoals benzine speelt een passieve rol, die láát zich zijn electronen afpakken door de zuurstof. Het is de zuurstof, die de actie veroorzaakt en onze auto vooruit duwt! Ook als we naar het geweld van een raketlancering kijken, zien we hetzelfde proces (zie afb.).



Zuurstof pakt z'n electronen terug...

Zuurstof wil dus z'n electronen terug, die eens zijn afgenomen, om weer in de uitgangstoestand: water, H_2O , terug te keren. Daarbij komt de oorspronkelijk door de zon ingestraalde energie weer vrij. Dit is tevens de essentie van onze ademhaling. Electronen worden aan de ingeademde zuurstof teruggegeven, met een fantastische opbrengst aan energie. Maar het zal u duidelijk zijn dat dit proces zeer gecontroleerd moet plaatsvinden...

Elk molecule O_2 wil 4 electronen opnemen om daarmee 2 moleculen H_2O te vormen. Chemici kunnen u vertellen, waarom deze 4 electronen niet in één keer kunnen worden opgenomen, maar dat dit niet anders kan dan één voor één. En daarbij worden uiterst reactieve tussenstadia gevormd, ook wel vrije radicalen genoemd. Zoals de naam al suggereert, deze vrije radicalen zijn chemisch agressief en kunnen lukraak andere moleculen beschadigen, waaronder ook het DNA. Hierin ligt het gevaar van het omgaan met zuurstof: er hangt een prijskaartje aan.



Zuurstof neemt z'n electronen één voor één terug, onder vorming van reactieve tussenproducten (aangegeven in rood). Bepaalde enzymen bieden bescherming.

Dit prijskaartje is volgens Denham Harman's 'vrije radicaaltheorie': het verouderingsproces en veel van de degeneratieverschijnselen die daarmee gepaard gaan. Denk aan dementie, hart- en vaatziekten, diabetes en kanker.



Harman (1956): Vrije radicaaltheorie van veroudering



Dit verantwoordelijk stellen van vrije radicalen voor het verschijnsel veroudering klinkt aantrekkelijk en heeft dan ook hele volksstammen onderzoekers in beweging gebracht. Bestudeerd werd natuurlijk vooral het effect van stoffen, die deze vrije radicalen onschadelijk kunnen maken, de zogenoemde antioxidanta, in de hoop het verouderingsproces te kunnen tegengaan. Wie er zich inmiddels ook op ruime schaal meester van heeft gemaakt is de commercie, die de heilzame effecten van antioxidanten als 'wetenschappelijk bewezen' aan de man brengt.



Maar als je naar de bewijzen zoekt, dan is de situatie teleurstellend, want die blijken voornamelijk gebaseerd op waarnemingen aan chemische reacties in de reageerbuis. Dat een antioxidant in de reageerbuis een vrije radicaalreactie remt, betekent bij lange na nog niet dat het toevoegen van zo'n stof aan een levende cel of organisme een gunstig effect zou moeten hebben.

Kortom, ik heb geprobeerd kritisch te kijken naar de vrije radicaaltheorie en heb bij veel van de conclusies en beweringen uitbundig de wenkbrauwen gefronst. De wetenschap begrijpt gewoon nog niet echt hoe de verdediging tegen de toxische werking van zuurstof precies in elkaar zit. Overigens begint de vrije radicaaltheorie vandaag de dag steeds meer zwakke plekken te vertonen, onder andere door wat ontdekt is bij de naakte molrat. Dit diertje is ongeveer zo groot als een muis, maar bereikt in goede gezondheid een 10x zo hoge leeftijd. En dat terwijl de gemeten vrije radicaalschade bij deze diertjes veel groter is dan bij de muis.



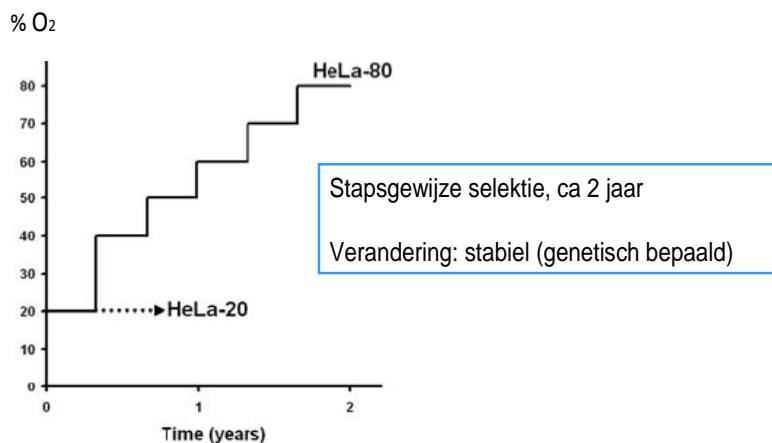
*Naakte molrat: veel radicaalschade, maar wordt gezond oud (30 jr).
Wat is er mis met de vrije radicaaltheorie?*

Maar goed: hoe kunnen we nu de verdediging van ons systeem tegen de toxische werking van zuurstof proberen op te helderen? Daar kom je niet achter door vrije radicalen te bestuderen, want die zijn tamelijk ongrijpbaar in een levende cel en hun rol blijft speculatief. Wat je wel kunt doen is naar de cellen zelf kijken. Hoe gedragen die zich als de concentratie van zuurstof wordt verhoogd tot een toxisch niveau? Hoe verdedigen zij zich?

Ik vatte het plan op dit te gaan onderzoeken en dacht aan het selecteren van cellen, die bestand zouden zijn tegen normaal gesproken toxische niveaus van zuurstof. Ik hoopte dan te ontdekken wat die cellen uit de kast zouden trekken om bij hoge zuurstofspanning te kunnen overleven.

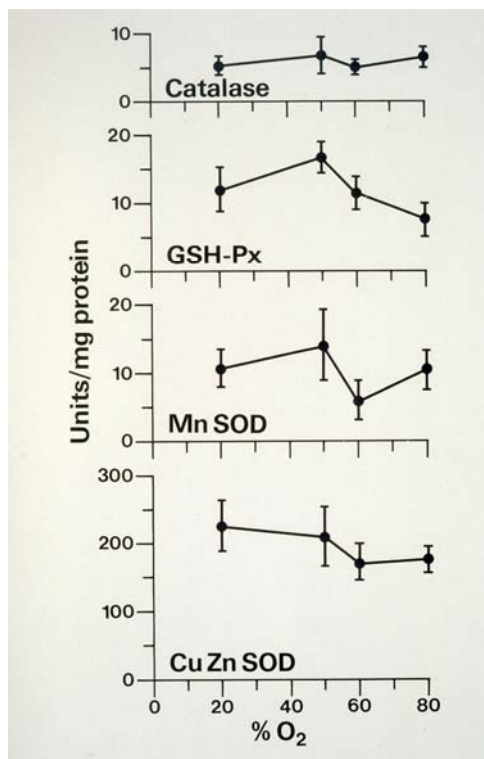
We startten dit onderzoek met onder andere de tumorcellijn HeLa, die ruim 50 jaar geleden is afgeleid van een menselijke baarmoederhalstumor. Er werd voor tumorcellen gekozen, omdat deze – zoals eerder gezegd – genetisch instabiel zijn en daardoor extra mogelijkheid hebben om zich aan veranderende omstandigheden aan te passen. Normaal gesproken stoppen deze cellen met delen als de zuurstofconcentratie stijgt boven de 35-40%. Door de cellen langere tijd aan te houden bij 40% zuurstof hoopten we echter dat een klein aantal resistente celletjes aanwezig zou zijn dat kon doorgroeien. En dat gebeurde ook (zie afb.). Door vervolgens de zuurstofspanning steeds met kleine stapjes verder te verhogen en elke keer te wachten tot de celpopulatie weer normaal groeide, hebben we in de loop van een periode van zo'n twee jaar cellen geselecteerd, die vrolijk groeien onder een atmosfeer van 80% O₂, een niveau waarbij de oorspronkelijke HeLa cellen onherroepelijk dood gaan.

Zuurstof-resistente cellijnen



Je zou nu verwachten dat in deze zuurstofresistente cellen de tegen zuurstof beschermende enzymen veel sterker aanwezig zouden zijn. Maar dit bleek niet het geval.

U ziet dat in de figuur hieronder: het toenemen van de resistentie gaat niet hand in hand met het toenemen van de beschermende enzymen. Deze leken dus bij de toegenomen resistentie geen beslissende rol te spelen!



*Bekende antioxidant enzymen nemen **niet** toe tijdens de selectie voor zuurstofresistentie*

Zo'n resultaat is voor een onderzoeker altijd spannend, want dat betekent dat het heersende dogma niet lijkt op te gaan en dat de werkelijkheid dus anders in elkaar moet steken. Een mogelijkheid tot nieuw inzicht!

We hebben vervolgens nog een tijd doorgewerkt om het raadsel van de resistentie te kunnen oplossen. Maar helaas was de technologie die nodig was om door te dringen tot de kern van het probleem nog niet beschikbaar. Vandaag de dag echter is de situatie radicaal anders en kan het probleem in principe worden opgelost. De benodigde technieken zijn nu wel beschikbaar. Ik doel op de mogelijkheid om de totale genetische code van een menselijke cel te lezen, die bestaat uit zo'n 6 miljard letters.

Dit is niet gering. U kent misschien het boek De Ontdekking van de Hemel van Harry Mulisch, een pil van bijna duizend bladzijden. Stelt u zich eens voor: een stapel van deze boeken zo hoog als de Rembrandttoren in Amsterdam, dan heeft

u een indruk van de hoeveelheid genetische letters van het DNA in een menselijke cel.

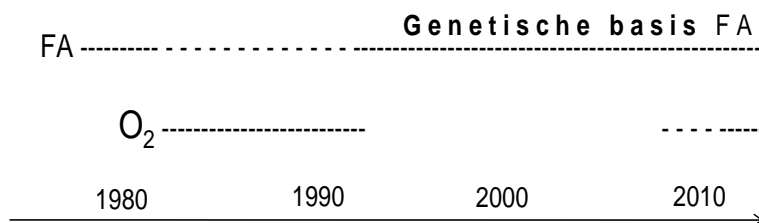


In het jaar 2000 was het wereldnieuws: de totale genetische code van de mens voor het eerst ontrafeld, weliswaar nog globaal. Dit was mogelijk geworden dankzij internationale samenwerking en de investering van zo'n slordige 2.5 miljard dollar. Nu, 11 jaar later, is de techniek zo ver voortgeschreden, dat het ook voor een onderzoekslab haalbaar is geworden om de code van in het lab gekweekte cellen met vrijwel 100% precisie te laten bepalen.

U begrijpt dat deze code ons het ultieme antwoord moet geven op de vraag waarin de zuurstofresistente cellen verschillen van de oorspronkelijke cellen. De laatste paar jaar wordt hier hard aan gewerkt en we hopen snel tot nieuwe inzichten te komen omtrent de verdediging van onze cellen tegen de toxische werking van zuurstof.

Kortom: spannend allemaal en wellicht grote wetenschappelijke sensatie in het verschiet. – Tot zover het verhaal over de zuurstoftoxiciteit.

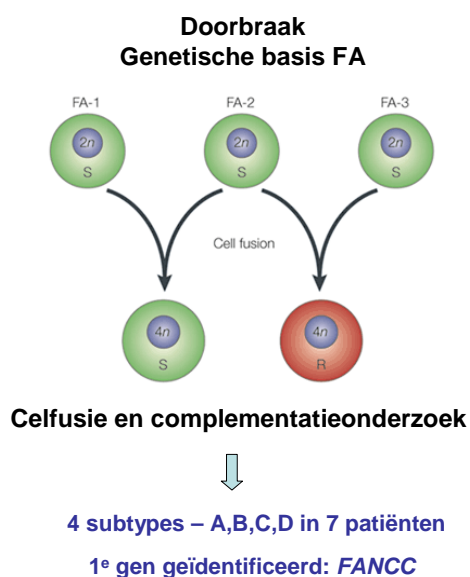
Na zo'n vijf jaar Fanconi anemie te hebben bestudeerd en ruim tien jaar de zuurstoftoxiciteit (hetgeen inmiddels zoals gezegd door de nieuwe technologie weer een vervolg heeft gekregen), besloten we begin jaren '90 de draad van het FA onderzoek weer op te pakken. We wilden ons nu gaan richten op de genetische basis van de ziekte, want daar lagen nieuwe kansen.



Eerst ter verduidelijking. Voor de arts is FA één ziekte, maar voor een geneticus is FA een verzamelnaam voor verschillende ziektes, namelijk verschillende genetische subtypes. Voor elk subtype is weer een ander defect gen verantwoordelijk. Een gen, dat FA kan veroorzaken, zal ik vanaf nu aanduiden met FA gen. Alle mensen bezitten in principe dezelfde genen. Een FA gen is bij gezonde mensen in orde, maar bij een FA patiënt disfunctioneert zo'n gen.

Het is de verdienste van Manuel Buchwald in Toronto, Canada, geweest dat hij aannemelijk wist te maken, dat het bij FA niet om 1 genetisch subtype gaat, maar om tenminste 4 subtypes. En: hij was er ook in geslaagd het gen behorend bij een van de 4 subtypes te identificeren, waarvoor hij op deze dia gelauwerd wordt met een medaille van de Fanconi Anemia Research Fund.

Manuel Buchwald, Hospital for Sick Children, Toronto, 1992:



We stonden dus nog maar aan het begin en er was veel te doen: er waren meerdere genetische subtypes en de bijbehorende genen waren (op één na) nog onbekend en die wilden we vinden. Dus hadden we materiaal van patiënten en hun familieleden nodig. Nu kwamen de mensen zelf in beeld. Dit gaf een geheel nieuwe dimensie aan het onderzoek, hetgeen onze motivatie nog verder versterkte.

Hoe kom je nu aan voldoende materiaal van patiënten en hun gezinsleden als het gaat om zo'n zeldzame ziekte? Door internationale samenwerking. Met geld van de Europese Unie konden we een Europees consortium oprichten: genaamd 'EUFAR' (European Fanconi Anemia Research) waarin onderzoekers en artsen uit 5 Europese landen gingen samenwerken.

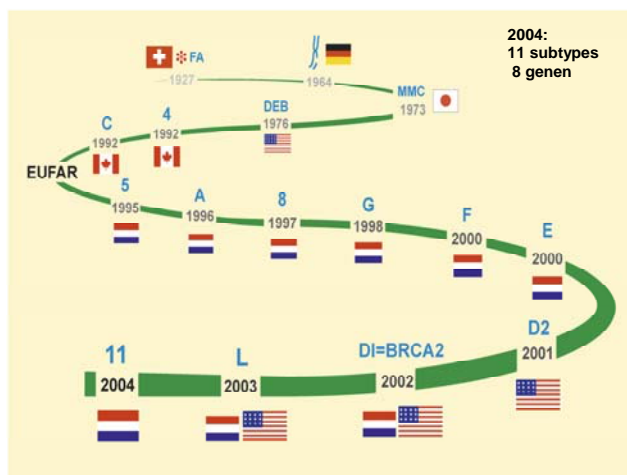
Hieronder ziet u een historisch momentje vastgelegd: de leden van het consortium bij de oprichtingsvergadering, op de trappen van hotel Americain in Amsterdam. U ziet ook dat participanten uit Nederland (omcirkeld) goed vertegenwoordigd waren.



Vanzelfsprekend waren de contacten met de patiëntenverenigingen van groot belang. Cruciaal was de samenwerking met het echtpaar Dietrich, dat de Duitse patiëntenvereniging heeft opgericht. En de samenwerking met het echtpaar Dave en Lynn Frohnmayer, oprichters van de Amerikaanse FA Research Fund, dat een fenomenale rol speelt bij het stimuleren van het onderzoek naar de ziekte. Beide families hebben inmiddels twee van hun kinderen aan de ziekte FA verloren: Sara Ninja en Valeska Dietrich en Kathy en Kirsten Frohnmayer.



Belangrijk doel van het consortium was om bloed- en huidmonsters te verzamelen van zoveel mogelijk FA families om daarmee de vraag te kunnen beantwoorden welke genen verantwoordelijk zijn voor de ziekte. In eerste instantie op basis van de aanpak van Buchwald gingen we op zoek naar alle genetische subtypes en de bijbehorende FA genen. Een doorbraak werd bereikt in 1996, toen we het belangrijkste FA gen vonden, verantwoordelijk voor het meest voorkomende subtype wereldwijd. Dit was het begin van een zeer succesvol avontuur, dat vandaag de dag nog volop aan de gang is. Toen ik mijn oratie hield, heb ik onze “triumftocht” samengevat op deze dia: we hadden toen 11 genetische subtypes gevonden en van 8 van deze subtypes was ook het bijbehorende gen geïdentificeerd. Daarbij had in praktisch alle gevallen onze groep in Amsterdam het voortouw genomen dan wel belangrijk bijgedragen. Intussen zijn alle genen van die 11 subtypes bekend en er zijn er nog 4 bijgekomen, zodat we inmiddels 15 FA genen kennen.



Anno 2011:

*15 subtypes
15 genen*

In de tabel hieronder zijn alle genen nog eens samengevat. Een verrassend aspect was, dat enkele van de gevonden genen (in rood aangegeven) een rol bleken te spelen bij de erfelijke aanleg voor borstkanker. Hierdoor werd de ziekte FA in veel bredere zin relevant voor het kankeronderzoek. Dit was dan ook een belangrijke reden voor KWF Kankerbestrijding om mijn leerstoel te ondersteunen.

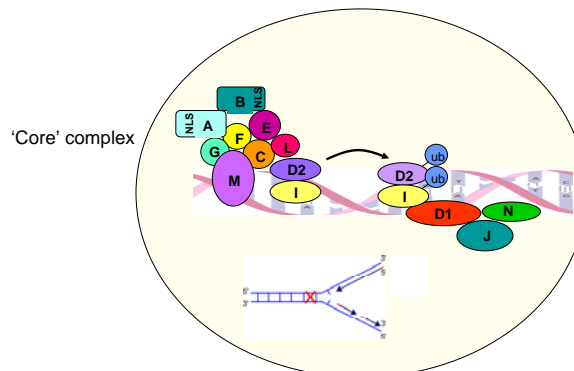
De 15 FA genen anno 2011

Gen	Ontdekt	Waar?	Eiwit (az)
FANCA	1996	16q24.3	1455
FANCB	2004	Xp22.31	859
FANCC	1992	9q22.3	558
FANCD1/BRCA2	2002	13q12	3418
FANCD2	2001	3p25.3	1451
FANCE	2000	6p21.3	536
FANCF	2000	11p15	374
FANCG	1998	9p13	622
FANCI	2007	15q25-26	1328
FANCI/BRIP1	2005	17q22	1249
FANCL	2003	2p16.1	375
FANCM	2005	14q21.3	2048
FANCN/PALB2	2007	16p12.1	1186
FANCO/RAD51C	2010	17q22	376
FANCP	2011	16p13.3	1834

Genen coderen voor eiwitten. Deze eiwitten doen vervolgens het werk in de cel. Hoe komt het nu dat er zo veel verschillende eiwitten zijn, die elk afzonderlijk bij disfunctioneren een en hetzelfde ziektebeeld geven? Wel: alle FA eiwitten werken samen in een en hetzelfde proces. Het proces namelijk, dat bijdraagt aan het correct verlopen van DNA verdubbeling. Bij disfunctioneren van één onderdeel ligt het hele proces plat. Het maakt niet uit welke schakel defect is: één kapotte schakel maakt al, dat de ketting breekt.

Het samenwerkingsverband van de FA eiwitten wordt wel het “FA pad” genoemd. Hieronder ziet u een schematische weergave van het FA pad. De gekleurde bolletjes zijn de FA eiwitten, waarvan enkele elkaar vinden in een complex, dat op zijn beurt weer andere FA eiwitten stimuleert om tot actie over te gaan. De gezamenlijke actie van alle FA eiwitten moet er dus voor zorgen, dat onze genetische informatie intact blijft en dat onder andere kanker minder kans krijgt.

Moleculaire basis: het 'FA pad'



- Functie: oplossen geblokkeerde replicatievorken
- Defect: DNA instabiliteit → kanker
- Defect: hypergevoeligheid voor cross-linkers

Terugblikkend kunnen we de vraag stellen: wat is de impact geweest van onze ontdekkingen, met name de ontdekking van het FA pad?

Eerst de impact voor de FA patiënten en de families.

Hier ligt het belang vooral op het gebied van de diagnostiek. Voor veruit de meeste patiënten is het vaststellen van het verantwoordelijke ziektegen nu mogelijk geworden. Kennis hiervan is belangrijk voor de erfelijkheidsvoorlichting aan families en geeft vaak nuttige informatie over het beloop van de ziekte.

En wat is de impact in meer algemene zin?

Dat de genetische ontrafeling van een zeldzame erfelijke ziekte heeft geleid tot een bijzondere ontdekking. De ontdekking van een biochemische route, die essentieel is voor het betrouwbaar kopiëren van ons DNA: het 'FA pad'.

Bij een defect in dit pad zien we chromosoombreuken en een sterk toegenomen risico op kanker, en bovendien: extreme gevoeligheid voor cross-linkers waaronder bepaalde antikankermiddelen. De inmiddels 15 bekende FA genen bieden even zovele aanknopingspunten voor de ontwikkeling van nieuwe kankertherapieën. Als we er namelijk in zouden slagen om één FA gen of eiwit uit te schakelen in een willekeurige tumor, dan zou deze tumor hypergevoelig worden voor cross-linkers, waardoor chemotherapie effectiever kan worden ingezet.

En dan nog een enkel woord over de toekomst. Wat zijn nu nog de belangrijkste issues? Tegenwoordig is het grootste levensbedreigende probleem voor FA patiënten het risico op plaveiselceltumoren, die vooral in de mondholte ontstaan. Dit probleem vergt ontwikkeling van nieuwe technieken die tijdige opsporing van deze tumoren mogelijk maken. Gelukkig is de groep van professor Ruud Brakenhoff van de afdeling KNO deze uitdaging aangegaan. Hij gaat zich daar, in samenwerking met de heer Ralf Dietrich en Dr. Eunike Velleuer, de komende jaren intensief mee bezig houden.

Intussen zijn er nog steeds patiënten bij wie het ziektegen nog niet is ontdekt. Hier ligt dus nog een belangrijke taak: de resterende genen identificeren. Deze resterende puzzelstukjes kunnen tevens helpen om de details van het FA pad verder op te helderen.

Belangrijk is ook het vaststellen of en hoe FA genen een rol spelen bij erfelijke en niet-erfelijke vormen van kanker. In de gevallen waar deze genen een rol blijken te spelen, geeft dit een concreet aanknopingspunt voor een behandeling op maat: behandeling waarbij cross-linkers een beslissende rol kunnen spelen, eventueel in combinatie met andere middelen.

Tot slot: resistentie van tumorcellen tegen antikankermiddelen is een belangrijk probleem in de kliniek. Ook die tumorcellen, die als gevolg van een defect FA gen aanvankelijk hypergevoelig zijn voor deze middelen, blijken op den duur

resistent te kunnen worden. Blijkbaar kunnen deze tumorcellen op de een of andere manier een FA defect compenseren. Het vinden van die compenserende mechanismen is een belangrijke uitdaging voor de toekomst.

Toekomst

1. Vroege opsporing plaveiselceltumoren bij FA patiënten
2. Resterende genen identificeren
3. Verdere opheldering van het FA pad
4. Rol FA genen bij erfelijke en 'sporadische' kankers
5. Processen die een FA defect kunnen compenseren (Belangrijk voor cisplatin resistentie van tumoren!)

En dan is het nu tijd voor een slotoverweging. Die wil ik ophangen aan een stelling van onze rector magnificus, professor Lex Bouter, die hij in 2008 heeft geponeerd tijdens een 'heilig VU-UUR', dat eens in de maand wordt georganiseerd in ons VUmc.

Zijn voordracht ging over onderzoeksbeleid, waaraan hij twee stellingen toevoegde. De tweede stelling luidde:

Excellentie [in het onderzoek] is maakbaar!

Welnu, dit moge waar zijn, maar er zijn wel een aantal randvoorwaarden, en daar wil ik het over hebben.

Binnen de setting van een Medisch Centrum zijn de belangrijkste betrokkenen: de artsen, de onderzoekers en de bestuurders. Deze zijn volgens sommigen zo verschillend, dat ze welhaast lijken te behoren tot verschillende rassen van de soort *Homo sapiens*. De vraag is in hoeverre deze groepen elkaars taal spreken en elkaar echt begrijpen. Om hierin inzicht te krijgen kan het nuttig zijn een parallel te trekken met een andere soort: *Canis lupus familiaris*, een gedomesticeerde ondersoort van de wolf.

De drie beroepsgroepen die goed moeten samenwerken:

- Artsen
- Onderzoekers
- Bestuurders/managers

Vergelijk:

3 rassen van *Canis lupus familiaris*



De Geneesheer



De Onderzoeker



De Manager

Allereerst: de geneesheer, wiens hoogste prioriteit het is om mensenlevens te redden, en die daarvoor de nodige hulpmiddelen altijd paraat heeft.

Dan: de onderzoeker, die eigenlijk maar één passie heeft: het vangen van konijnen en daarvoor is hij uitgerust met een uiterst scherp reukorgaan.

En tenslotte: de manager met zijn spiedende blik. Deze heeft een hekel aan wanorde, alles moet netjes geregeld zijn. De schapen moeten op tijd in hun hok gedreven worden. En hier ligt tegelijkertijd de tragiek van de situatie: hij kan niet goed begrijpen waarom de teckels zich niet gewoon netjes gedragen, als schapen. Hij begrijpt de aard van de teckel niet goed: een teckel is een relatief eigenzinnig dier dat zich maar heel beperkt laat commanderen.

De uitdaging voor een Medisch Centrum dat toponderzoek nastreeft: openstaan voor de aard van de teckel! En dat betekent: **Erken de specifieke kwaliteiten van de teckel en vertrouw op zijn unieke speurneus!**

Pas als aan deze randvoorwaarde is voldaan, is excellentie in het onderzoek maakbaar.

Rest mij nog een dankwoord uit te spreken.

Dankwoord

Dank ben ik verschuldigd aan het college van bestuur van de Vrije Universiteit, de raad van bestuur van het VU medisch centrum en KWF Kankerbestrijding voor het in mij gestelde vertrouwen. Daarnaast de directie van CCA/V-ICI (met name prof. Peter Huijgens) en mijn collega programmaleiders van het thema Oncogenese, prof. Ruud Brakenhoff en prof. Peter Snijders, voor een jarenlange prettige en productieve samenwerking.

Mijn onderzoek is de afgelopen jaren steeds ingebed geweest in de afdeling Klinische Genetica. Na de komst van Prof. Hanne Meijers als afdelingshoofd is er gezorgd voor de oprichting van een aparte sectie Oncogenetica onder mijn leiding. Voortschrijdend inzicht heeft echter inmiddels geleid tot een fusie van alle laboratoriumsecties van de afdeling tot één sectie voor laboratoriumonderzoek, onder supervisie van Prof. Peter Heutink, die voordien de sectie Medische Genoomanalyse onder zijn leiding had.

Het onderzoek van de voormalige sectie Oncogenetica is nu in handen van de drie collega stafleden, aan wie ik veel dank verschuldigd ben voor hun inzet in de afgelopen jaren: Johan de Winter, Josephine Dorsman en Quinten Waisfisiz.



Johan de Winter
Jesper Balk
Chantal Stoepker
Sheba Agarwal
Najim Ameziane
Atiq Faramarz



Josephine Dorsman
Davy Rockx
Anneke Haitjema
Monique Corbin
Berber Mol
Kash Roohollahi
Eileen Daniels
Hans van Beek
Hilal Taymaz



Quinten Waisfisiz
Saskia van Mil
Maarten Massink
Janine Bakker
Sumira Malik
Hanne Meijers

Johan zal het onderzoek naar DNA instabiliteit voortzetten, d.w.z. Fanconi anemie en aanpalende syndromen zoals de cohesinopathieën, dagelijks bijgestaan door Jesper Balk, promovendus Chantal Stoepker en postdoc Sheba Agarwal; 2 nieuwe projecten staan op het punt van start te gaan, met Najim Ameziane en Atiq Faramarz.

Josephine zal zich de komende jaren gaan concentreren op het thema resistentie, waaronder ook de zuurstofresistentie, en daarnaast de oogtumor retinoblastoom. Samen met Davy Rockx begeleidt zij de promovendi Anneke Haitjema, Monique Corbin, Berber Mol, en Khash Roohollahi. Hans van Beek participeert in het zuurstofwerk, samen met Hilal Taymaz, voor het onderzoek naar metabole routes onder de diverse vormen van stress.

Quinten, bijgestaan door vaste analist Saskia van Mil, focust op erfelijke borstkanker samen met professor Hanne Meijers. De andere medewerkers zijn: Maarten Massink, Janine Bakker en Sumira Malik.

Mijn grote dank gaat verder uit naar prof. Hein te Riele, die als bijzonder hoogleraar verbonden aan onze afdeling trouw deelneemt aan onze wekelijkse werkbijeenkomsten, waaraan hij met zijn kritische blik altijd constructief heeft bijgedragen.

Een speciaal woord van dank geldt de research analisten Anneke Oostra, Martin Roimans en de inmiddels vertrokken Jûrgen Steltenpool en Yne Waterham. Zij hebben met hun vakmanschap en niet aflatende ijver op beslissende wijze bijgedragen aan de successen van het onderzoek.



Anneke Oostra



Martin Roimans



Dominique Akse

En natuurlijk dank aan Dominique Akse, die als secretaresse van de sectie – meestal op de achtergrond – belangrijk ondersteunend werk heeft verricht, waarbij haar rol bij de organisatie van dit afscheid niet ongenoemd mag blijven. Van de vroegere medewerkers aan de projecten wil ik met name noemen: Hans Gille, Pieter van der Valk en Willem Schoonen. Zij hebben in de jaren 80 de basis gelegd voor het zuurstofonderzoek, dat nu een vervolg krijgt onder leiding van Josephine Dorsman.

En dan geldt natuurlijk dank aan de co-auteurs van de vele publicaties die het licht hebben gezien. Hun namen verschijnen in alfabetische volgorde aan het eind van dit boekje.

Zonder geld is er geen onderzoek. Dus: dank aan de organisaties voor de financiële en andere essentiële ondersteuning: KWF, CCA/V-ICI, NWO, EU, FARF en een bijzonder woord van dank aan de patiëntenverenigingen in Nederland, Duitsland, Italië en Frankrijk.

Furthermore, I would like to thank the earlier speakers of today for their highly appreciated contributions to the symposium. I really enjoyed your talks!-----



En *last but not least* bedank ik mijn echtgenote Margreet en onze kinderen Jan Willem, Bas en Fenneke voor hun ondersteuning en hun begrip voor het feit, dat het samenleven met een gedreven wetenschapper als ik niet altijd even gezellig is. Inmiddels zijn er vier kleinkinderen: Jasmijn, Robin, Ronja en Tove, met wie ik de komende jaren meer tijd hoop te kunnen spenderen. –

Meneer de rector, dames en heren: dank voor uw aandacht.

Ik heb gezegd.

Dank aan de co-auteurs :

Abecasis M
 Abella E
 Adank MA
 Admiraal W
 Agarwal S
 Akkari Y
 Alderton GK
 Ali AM
 Alikasifoglu M
 Alon N
 Altay C
 Alter BP
 Ameziane N
 Andreassen PR
 Arceci RJ
 Arslanian A
 Arwert F
 Asano S
 Aubry JM
 Auerbach AD
 Baak JPA
 Baart de la Faille H
 Baas F
 Bagby G
 Bagnara GP
 Bagnay M
 Bakhshi S
 Bakker ST
 Balta G
 Banerjee R
 Barber L
 Barel MT
 Batish SD
 Baumann C
 Beck JD
 Becker
 -Bloemkolk MJ
 Beckers L
 Begeer JH
 Békássy A
 Beliën JAM
 Benbow RM
 Bender O
 Berns A
 Berns MAD
 Berwick M
 Bianco AM
 Biedler JM
 Bier P
 Birch JM
 Bishop CE
 Blank LECM
 Bloemena E
 Blom E
 Børglum AD
 Borriello A
 Borst P
 Bosnoyan Collins L
 Braakhuis BJM
 Brakenhoff RH
 Braun JEF
 Breaux CB
 Briot D
 Broxterman HJ
 Buchwald M
 Bueren JA
 Buerger H
 Califano J
 Callen DF
 Callen E
 Callén E
 Calzone R
 Caporossi D
 Carr TF
 Carreau M
 Casado JA
 Castella M
 Cavenagh J
 Ceccaldi R
 Chamousse D
 Chen F
 Cheng NC
 Christian J
 Chrzanowska KH
 Ciccia A
 Clayton-Smith J
 Cloos J
 Cohn RJ
 Constantinou A
 Cool NFC
 Corless C
 Costanzo V
 Coulthard R
 Cox B
 Creus A
 Criscuolo M
 d'Apolito M
 Daeë D
 Dagna-Bricarelli F
 Dallapiccola B
 D'Andrea AD
 Daniel JW
 Darroudi F
 Dasi A
 De Bruin GJM
 De Die-Smulders C
 De Graaf B
 De Groot J
 De Koning H
 De Koning J
 De Leeuw SJ
 De Nef JJ
 De Ravel T
 De Ravel T
 De Vries N
 De Vries Y
 De Winter JP
 Decaillet C
 Del Principe D
 Del Vecchio M
 Delannoy M
 Della Ragione F
 Delzenne-Goette E
 Demuth I
 Denkers F
 Di Perna M
 Di Summa FM
 Dietrich R
 Digweed M
 Dijkmans LM
 Dokal I
 Dorsman JC
 Dos Santos CC
 Du CH
 Du H
 Dubois d'Enghe C
 Duerr M
 Easton DF
 Ebell W
 Eden OB
 Eden TOB
 Elghalbzouri-
 Maghrani E
 Eriksson AW
 Errami A
 Ersfeld K
 Espinosa M
 Essop F
 Estella JM
 Evans DGR,
 Faivre L
 Fan Q
 Fergusson WD
 Ferrer M
 Foijer F
 Fontaine C
 Ford D
 Fox EA
 Frants RR
 Fu K-L
 Garcia-Higuera I
 Gautier J
 Gergely F
 Gibson RA
 Gille JJP
 Gluckman E
 Godthelp BC
 Gordillo M
 Gordon SM
 Gottsche K
 Graesl S
 Grassman E
 Green M
 Grompe M
 Gross HJ
 Gross M
 Gruber M
 Guardiola P
 Guinan E
 Hain K
 Haitjema A
 Hamilton TC
 Hanenberg H
 Harnden DG
 Harris R
 Harutyunyan K
 Haveman J
 Havenga C
 Henrichs I
 Hermin O
 Hermens MAJA
 Herterich S
 Herzberg S
 Hess CJ
 Hilhorst-Hofstee Y
 Hiom K
 Hoatlin M
 Hodgson SV
 Hoebee B
 Hoehn H
 Hoelzel M
 Holmes RK
 Hoorweg JJ
 Hoovers JMN
 Horowitz S
 Housman D
 Houwen B
 Howlett NG
 Huber PAJ
 Huet F
 Hunt C
 Hussain S
 Ianzano L
 Ikeda H
 Inui K
 Ishiai M
 Jabs EW
 Jackson SP
 Jakobs C
 Jakobs PM
 Jansen M
 Jansen S
 Jasin M
 Jaspers NGJ
 Jeggo PA
 Johnson M
 Jongkind JF
 Jongsma APM
 Kalb R
 Karwacki M
 Kaspers GJ
 Kastan MB
 Kawai Y
 Kawakami Y
 Kayserili H
 Keizer HG
 Kinoshita A
 Ko J-Y
 Koc A
 Kohler JA
 Komatsu K
 Konings AWT
 Konings WN
 Koomen M
 Kortbeek H
 Kostense PJ
 Krause A
 Krauss MR
 Krimpenfort P
 Kruyt FAE
 Kunze J
 Kupfer G
 Kuyt LP
 Kwee ML
 Lafleur MVM
 Laghmani EH
 Lankelma J
 Largher J
 Le Merrer M
 Leach R
 Leblan T
 Lee J-S
 Leegwater PA
 Leemans CR
 Leschot NJ
 Léveillé F
 Levitus M
 Lewis C
 Leyva AL
 Li L
 Li ZG
 Lightfoot L
 Lin T
 Ling C
 Linka Y
 Liu J
 Livingston DM
 Llera J
 Lo Ten Foe J
 Lutgerink JT
 Madan K
 Madgy D
 Marcos R
 Marsh J
 Martinez J
 Mathew C
 Matsushita M
 McDonald N
 Medhurst AL
 Meetei AR
 Meijer CJLM
 Meijer GA
 Meijers-Heijboer H
 Melchionda S
 Meuwissen SGM
 Meyer S
 Meyers MB
 Miyazato A
 Mohan S
 Mok SC

Morgan NV	Schuler D	Van der Velde-	Yanagihara I
Mosedale G	Schuster B	Koerts T	Yang D
Moses RE	Schuurhuis GJ	Van der Wal A	Yang F
Mullaart E	Sechi S	Van der Wal JE	Young MK
Mulligan R	Segovia JC	Van der Weel L	Youssoufian H,
Muniandy PA	Seidman MM	Van Diest PJ	Zatterale A
Muñoz A	Sen R	Van Dijk P	Zdzienicka MZ
Myung K	Shah M	Van Duijn-Goedhart	Zhang K
Naf D	Shahidi NT	A	Zhi Y
Nauta JJP	Shen X	Van Essen AJ	Zwaan CM
Naylor S	Sheng Q	van Gosliga D	Zweekhorst MBM
Nicoletti B	Sieff C	Van Groeningen M	
Nieuwint AWM	Singh TR	Van Harn T	
Nobili B	Slater R	Van Kogelenberg M	
Noguer M-E	Smeets D	Van Rijn J	
O'Driscoll M	Smeets I	Van Spaendonk R	
Olson S	Sminia T	Van Vugt M	
Oostra AB	Smith L	Van Weel-Sipman	
Ortega JJ	Sng C	M	
Osman F	Snijders PJF	Van Wijk R	
Ossenkoppele GJ	Snow GB	Van Zandwijk N	
Ossenkoppele GJ	Sobeck A	Van Zeeburg HJT	
Ozols RF	Socié G	Van Zon W	
Ozono K	Soulier J	Vasque N,	
Pace P	Souren JEM	Veerman AJP	
Pachen D	Sperling K	Vega H	
Pals G	Stasiak A	Velleuer E	
Parker L	Steen I	Venema G	
Pasman P	Steenbergen RDM	Verkerk A	
Patel KJ	Steltenpool J	Verloes A	
Pauli RM	Stoepker C	Vermeulen CA	
Pearson T	Stone S	Vernole P	
Persky N	Stones D	Ververne R	
Piemontese MR	Stoppa-Lyonne D	Vijg J	
Pinedo HM	Strippoli P	Vijzelaar RN	
Plukker Th	Strunk MHP	Wagner M	
Poll EHA	Stumm M	Wahengbam K	
Pondarr C	Suliman A	Wainwright L	
Poole J	Sung P	Waisfisz Q	
Porfirio B	Surralles J	Walboomers JMM	
Portnoi MF	Takata M	Wallisch M	
Postlethwait JH	Tan WM	Walsh CE	
Pronk JC	Taniguchi T	Wanamarta AH	
Pruijn FB	Taylor AMR	Wang W	
Pulsipher M	Taylor GM	Wegner R-D	
Ramenghi U	Te Riele H	Welters MJP	
Rao KW	Tedeschi B	Wennerberg J	
Ravindranath Y	Temtamy S	West SC	
Reifsteck C	Ten Kate LP	Westerveld A	
Reinhardt D	Thauvin-Robinet C	Westmijze EJ	
Reis A	Thayer M	Wevrick R	
Retèl J	Thiel M	Whitby MC	
Reuter T	Thompson LH	White SH	
Riethorst A	Tischkowitz M	Whitney M	
Rio P	Titus TA	Whyzmuzis CA	
Roberts I	Trevor F	Wiegant J	
Rockx D	Tuss P	Wienker TF	
Rooimans MA	Van Berkel CGM	Wientjes NM	
Roozendaal KJ	Van Buul PPW	Wijker M	
Roubos EW	Van de Kamp JJP	Will AM	
Rouse J	Van de Vrugt HJ	Williams DA	
Saar K	Van den Akker E	Wilson JB	
Sahaayaruban P	Van den Berg J	Wlodarski M	
Saito H	Van den Berg TK	Wolthuis RM	
Sakai N	Van den Ouweland	Woodcock CL	
Samochatova E	AM	Wortelboer HM	
Sasaki MS	Van der Bliet AM	Woutersen RA	
Savino M	Van der Groep P	Wu N	
Savoia A	Van der Kleij JM	Wu T	
Scheffer GL	Van der Lelij P	Xia B	
Scheper R	Van der Plas LHW	Xie Y	
Schindler D	Van der Sterre MLT	Xu C	
Schneider H	Van der Valk M	Xue Y	
Schoof E	Van der Valk M	Yamada M	
Schoonen WGEJ	Van der Valk P	Yamashita T	
Schroeder-Kurth T		Yan Z	