

Microarrays bij bepaling prognose in borstkanker

J.A. FOEKENS

Achtergrond

Klinische en histopathologische eigenschappen van de borsttumor bepalen voornamelijk de keuze van therapie. In het huidige beleid wordt bij vrouwen met primaire borstkanker (tumor in de borst) de therapie-keuze (al dan niet adjuvante systemische hormonale en/of chemotherapie en/of immunotherapie) gemaakt op grond van de leeftijd en menopauzale status van de patiënt, het al of niet aanwezig zijn van tumorcellen in de lymfeklieren, en op basis van kenmerken van de tumor (tumor grootte, differentiatiegraad, steroïdhormoon[ER/PgR]-receptorstatus en, sinds kort, ook de HER2-neu-status). Voor vrouwen met reeds aantoonbaar uitgezaaide ziekte wordt voor het geven van een bepaalde vorm van systemische therapie voornamelijk rekening gehouden met de klinische symptomen, locatie van de metastase(n), leeftijd van de patiënt en de ER/PgR/HER2-neu-status van de tumor. De behandeling is palliatief en de patiënten zullen uiteindelijk overlijden ten gevolge van het resistent worden van de metastasen tegen alle vormen van therapie.

In veruit de meeste gevallen wordt na de chirurgische verwijdering van de primaire tumor een adjuvante systemische therapie gegeven om de kans op het later optreden van metastasen te verminderen. Ook vrouwen van wie tijdens de primaire chirurgie de lymfeklieren nog niet aangedaan zijn met tumorcellen (N0-patiënten) en derhalve een relatief goede prognose hebben, krijgen voor het overgrote deel een adjuvante systemische therapie. Dit ondanks het feit dat van deze groep van patiënten met een goede prognose, het merendeel al genezen is door de regionale behandeling met chirurgie, al of niet aangevuld met radiotherapie. Bovendien is een adjuvante systemische behandeling met de bestaande medicijnen nog lang geen garantie dat de tumor later niet terugkomt. De afgelopen 20 jaar is er daarom veel onderzoek verricht naar celbiologische factoren die de prognose van de patiënt en de respons op therapie kunnen voorspellen. Dit type onderzoek is erg bewerkelijk en in de meeste gevallen werden er slechts één of enkele factoren tegelijk onderzocht. Het onderzoek naar celbiologische karakterisering van tumoren maakt op het ogenblik een stormachtige ontwikkeling door. Dit is in de eerste plaats te danken aan het ophelderen van de genetische code aan het eind van de vorige eeuw. Gebaseerd op

deze informatie zijn technieken ontwikkeld om de mRNA-expressie van tienduizenden genen tegelijk te kunnen bestuderen. Aangezien een patiënt met een gemetastaseerde borstkanker niet meer te genezen is door het uiteindelijk resistent worden van celklonen binnen de metastasen tegen alle huidige beschikbare medicijnen, is het van groot belang om te kunnen begrijpen waarom de ene tumor wel kan uitzaaien en de andere niet. Verder is het van belang om op voorhand te weten of een tumor zal reageren op een bepaalde vorm van systemische behandeling. In ons onderzoek in het Erasmus MC in Rotterdam hebben wij met behulp van genexpressiearrays honderden borsttumoren onderzocht met betrekking tot het vermogen om uit te kunnen zaaien en hebben we de effectiviteit bepaald van specifieke vormen van therapie. Bovendien is een genprofiel ontwikkeld dat kan voorspelen of een tumor uit zal zaaien naar een bepaald orgaan, met name naar de bot.

Primaire borstkanker

De groep van lymfeklieren negatieve patiënten beslaat tegenwoordig ongeveer 60-65% van alle borstkankerpatiënten die jaarlijks in Nederland geopereerd worden. Omdat deze patiënten een relatief goede prognose hebben, kregen ze in ons land tot voor kort over het algemeen geen adjuvante systemische therapie. Echter, indien deze patiënten niet aanvullend worden behandeld met adjuvante therapie, ontwikkelen er zich in ongeveer 30-40% van de patiënten op termijn één of meerdere metastasen. De bijdrage van adjuvante systemische therapie in deze groep van patiënten varieert van 5 tot 10% absoluut overlevingsvoordeel (1, 2). Indien echter al deze patiënten behandeld zouden worden met adjuvante systemische therapie, hetgeen het geval is voor ca. 85-90% van de patiënten indien de St.-Gallen- (3, 4) of de 'US National Institutes of Health'-consensusrichtlijnen (5) gehanteerd zouden worden, wordt het merendeel onterecht met vaak toxische systemische therapie behandeld. Het is derhalve van belang om de patiënten die geen aanvullende behandeling nodig hebben omdat ze al genezen zijn door de regionale behandeling (chirurgie met of zonder aanvullende radiotherapie) op voorhand te kunnen identificeren, om hen de belasting van vooral chemotherapie niet te hoeven laten ondergaan. Patiënten die wel een hoog risico hebben voor het krijgen van metastasen kunnen, afhankelijk van het celbiologische fenotype van de tumor (bijvoorbeeld ER/PgR-status, HER2-neu-status), behandeld worden met een specifieke vorm van adjuvante systemische therapie.

Correspondentie: dr. John A. Foekens, biochemicus, Afdeling Interne Oncologie, Erasmus MC, kamer BE-426, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam
E-mail: j.foekens@erasmusmc.nl

Patiënten bij wie meerdere lymfeklieren reeds zijn aangedaan met tumorcellen ten tijde van de chirurgische verwijdering van de primaire tumor uit de borst (lymfeklierpositieve patiënten) hebben een slechte prognose. Bij deze patiënten bestaat er, afhankelijk van het aantal aangedane lymfeklieren, een grote kans (60-80%) dat de ziekte terugkomt op andere plaatsen in het lichaam. Deze patiënten, die een hoog risico hebben om later metastasen te ontwikkelen, krijgen kort na de operatie bijna allemaal een vorm van adjuvante systemische therapie. Op deze manier hoopt men de mogelijk aanwezige micrometastasen uit te roeien.

Gemetastaseerde ziekte en therapieresistentie

Ongeveer driekwart van de primaire borsttumoren zijn hormoonreceptor-positief. Patiënten met uitgezaaide ziekte zullen op een hormonale behandeling in 50-60% van de gevallen gunstig reageren met een complete of partiële remissie of een langdurige stabiele ziekte. Voor patiënten met een ER/PgR-negatieve tumor is dit minder dan 10%. Patiënten met metastasen op afstand reageren over het algemeen (in 50-60% van de gevallen) gunstig op chemotherapie alvorens de tumor uiteindelijk resistent wordt tegen systemische therapie. Er is dus een duidelijke klinische behoefte om vast te kunnen stellen welke patiënten wel en welke niet gunstig zullen reageren op een specifieke vorm van therapie.

Prognostisch genexpressieprofiel

Bij het verkrijgen van het Rotterdamse prognostische profiel hebben wij het RNA van 286 primaire borsttumoren geanalyseerd op Affymetrix U133a chips, die informatie bevatten over 22.000 messenger-RNA's. Geen van de patiënten, allen lymfekliernegatief en behandeld tussen 1980 en 1995, had enige adjuvante systemische therapie gekregen. Dit maakte het mogelijk om de zuivere prognostische waarde van genexpressie te bestuderen, zonder dat de resultaten konden worden beïnvloed door effecten van systemische therapie. Het profiel dat werd ontwikkeld bestaat in totaal uit 76 genen, 60 voor de ER-positieve tumoren, 16 voor de ER-negatieve tumoren. In de validatiegroep bleek de sterke prognostische waarde van het profiel te kunnen worden bevestigd (6). Met een nauwkeurigheid van 93% kon het 76-genprofiel voorspellen welke patiënten wel of niet een uitzaaiing kregen binnen vijf jaar na chirurgie. In de analyse voor metastasevrije overleving bleken patiënten met een hoogrisico 76-genprofiel een 'hazard ratio' (HR) te hebben van 5,7. Dit betekent dat ze een bijna zes maal zo grote kans hebben om een afstandsmetastase te krijgen vergeleken met patiënten van wie de tumor een laagrisico 76-genprofiel heeft. De prognostische waarde van het 76-genprofiel was ook sterk aanwezig in subgroepen van pre- (HR = 9,6) en postmenopauzale patiënten (HR = 4,0). In een aanvullende studie werd de prognostische waarde van het 76-genprofiel bevestigd in 180 lymfekliernegatieve patiënten van vier Europese ziekenhuizen (7). Geen van de patiënten in deze multicentrische studie had enige adjuvante systemische therapie ontvangen. Het RNA werd ge-

analyseerd op speciaal gefabriceerde Affymetrix-chips waarop alleen de informatie van de 76-genen uit het Rotterdamse profiel en een hoeveelheid controlegenen waren gespot. In deze volledig onafhankelijke validatieset bleek het 76-genprofiel opnieuw een sterke prognostische factor. De gevonden HR voor metastasevrije overleving was 7,4. Voor pre- en postmenopauzale patiënten werden HR's gevonden van respectievelijk 4,8 en 9,8. In de multivariate analyse voor metastasevrije overleving was het 76-genprofiel, idem als in de vorige studie (6), weer de enige statistisch significante factor met een HR van 11,4. Deze resultaten bevestigen dat het 76-genprofiel bruikbaar is voor alle lymfekliernegatieve patiënten, ongeacht leeftijd, menopauzale status, tumor grootte en tumorgraad.

Indien het Rotterdamse 76-genprofiel vergeleken wordt met het eerder gepubliceerde Amsterdamse 70-genprofiel (8, 9), is het belangrijkste verschil dat het Rotterdamse profiel ook bruikbaar is bij patiënten ouder dan 55 jaar, terwijl het Amsterdamse profiel werd ontwikkeld voor alleen patiënten jonger dan 55 jaar. Van het Amsterdamse 70-genprofiel en het Rotterdamse 76-genprofiel waren maar 3 genen identiek. Dit is niet echt verrassend te noemen, omdat er van de 70 genen van het Amsterdamse profiel, dat werd verkregen met de Agilent-array, er slechts 48 aanwezig zijn op de Affymetrix U133a array die werd gebruikt voor het maken van het Rotterdamse 76-genprofiel. Aan de andere kant waren er van de 76 genen uit het Rotterdamse profiel slechts 38 aanwezig op de array die werd gebruikt voor het maken van het Amsterdamse 70-genprofiel. Een ander belangrijke oorzaak die de verschillen in de beide profielen kunnen verklaren is ongetwijfeld gelegen in het feit dat in het Amsterdamse onderzoek geen onderscheid werd gemaakt tussen ER-positieve en ER-negatieve tumoren, terwijl in het Rotterdamse onderzoek aparte profielen werden gemaakt voor de ER-positieve subgroep (60 genen) en de ER-negatieve subgroep van tumoren (16 genen). Niettegenstaande de verschillen in beide profielen, zijn er veel overeenkomstige signaalpaden vertegenwoordigd in beide profielen, maar toch waren er ook hier duidelijk merkbare verschillen (10).

Botmetastaseprofiel

Het bot is de meest frequente plaats waar de tumor naar uitzaait in o.a. patiënten met borstkanker. Borstkanker kan resulteren in osteolytische botlaesies en het is aannemelijk dat het micromilieu in het bot ervoor zorgt dat de circulerende kankercellen kunnen hechten en uitgroeien tot macrometastasen. Het is van belang om te kunnen voorspellen of de tumor uit zal zaaien naar het bot of andere organen, om een eventuele extra adjuvante therapie te geven die specifiek de 'homing' en uitgroei van de uitzaaiingen in betreffende organen kan voorkomen. In dit kader zouden bisfosfonaten mogelijk botmetastasen kunnen voorkomen (11). Van de 107 patiënten van wie de locatie van de metastasen bekend was uit onze genexpressiestudie (6), werd onderzocht of een genprofiel kon voorspellen dat de tumor naar de bot zou gaan uitzaaien. Een panel van 69 genen bleek differentieel tot expressie te komen tussen tumoren die wel en die niet naar de bot-

ten uitzaaiden (12). De twee meest discriminerende genen waren 'trefoil' factor-1 (TFF1) en TFF3. TFF1 is een oude bekende die voorheen beschreven werd als het oestrogeengereguleerde pS2-eiwit dat een gunstige prognostische en predictieve waarde bleek te hebben (13-16). Bovendien bleek dat het fibroblast-groefactor-signaalpad is betrokken bij uitzaaiing van borstkankercellen naar de botten. Een 31-genprofiel dat vervolgens werd ontwikkeld in de trainingset, toonde bij validatie een sensitiviteit van 100% en een specificiteit van 50%. Met andere woorden, met het 31-genprofiel konden alle patiënten die een uitzaaiing naar het bot kregen geïdentificeerd worden, terwijl tumoren die niet naar de botten uitzaaiden, in de helft van de gevallen toch een positief 31-genprofiel bleken te hebben (12). Indien deze resultaten kunnen worden bevestigd in een grotere en onafhankelijke groep van patiënten, zou kunnen worden overwogen om borstkankerpatiënten met een positief 31-genprofiel van de primaire tumor een extra behandeling te geven bovenop de reeds geïndiceerde adjuvante systemische therapie voor de hoogrisicopatiënten.

Therapieresistentie genexpressieprofielen

Met betrekking tot de effectiviteit van tamoxifen-behandeling voor ER-positieve patiënten hebben we de expressie van het RNA van 112 ER-positieve primaire tumoren bestudeerd van patiënten van wie bekend was dat ze later metastasen hadden ontwikkeld en hiervoor waren behandeld met tamoxifen als eerstelijns-enkelvoudige therapie. In een trainingsset van 46 tumoren kwamen 81 genen differentieel tot expressie tussen tumoren die wel en die niet resistent waren tegen de hormonale therapie. De genen waren voornamelijk betrokken bij oestrogeenwerking, apoptose, extracellulaire matrixaanmaak en immuunrespons. Uitgaande van deze 81 genen werd een 44-genprofiel gemaakt dat bij validatie op een onafhankelijke groep van 66 tumoren een sterke predictieve waarde te zien gaf. Het 44-genprofiel voorspelde beter welke patiënt een tamoxifenresistente tumor had dan de combinatie van de traditionele factoren inclusief leeftijd en menopauzale status, ziektevrij interval, hoeveelheid ER en PgR, en de plaats van de uitzaaiing (17).

Onlangs hebben we ook een genexpressieprofiel ontwikkeld dat kan voorspellen welke tumoren niet zullen reageren op conventionele chemotherapie. Hiervoor werden primaire tumoren onderzocht van 156 patiënten die chemotherapie (103x FAC, 53x CMF) hadden ontvangen als eerstelijnsbehandeling voor uitgezaaide ziekte. Van de chemotherapieresistentieprofielen die voor alle patiënten, en apart ook voor de ER-positieve en ER-negatieve subgroepen werden ontwikkeld, was alleen een 31-genprofiel voor de ER-negatieve subgroep voldoende robuust dat het kon worden bevestigd in een onafhankelijke testset. Met een gevoeligheid van 91% en een specificiteit van 56% kon het 31-genprofiel voorspellen welke patiënten niet op chemotherapie zullen reageren (18).

Toekomstverwachting

Genprofielen zijn veelbelovend bij het vaststellen van de prognose van patiënten met primaire en gemetasta-

seerde borstkanker. Echter, geen van de huidige beschikbare expressieprofielen zijn zodanig gevalideerd dat ze in de praktijk kunnen worden toegepast. Desondanks zijn er al twee prognostische testen commercieel beschikbaar. Agendia verkoopt een test voor het bepalen van het Amsterdamse prognostische 70-genprofiel en Genomic Health verkoopt een test voor het bepalen van een prognostisch 21-genprofiel. Dit laatste genprofiel werd ontwikkeld voor patiënten die adjuvante hormonale therapie krijgen (19). In deze studie werd gebruik gemaakt van 21 (inclusief 5 controlegenen) vooraf sterk geselecteerde genen, die door de onderzoekers echter niet waren verkregen door een genomwijde screening zoals wij in het NKI (8) en Erasmus MC (6) wel hebben gedaan. De Amerikaanse onderzoekers vermelden echter niet hoe de selectie van de genen heeft plaatsgevonden. Bovendien is er nog geen onafhankelijke validatiestudie gepubliceerd. Het ligt in de lijn der verwachting dat genprofielen binnen afzienbare tijd gaan worden ingepast in consensus aangaande diagnose en behandeling van borstkanker. Het is nog niet duidelijk welk detectieplatform het uiteindelijk zal gaan worden. Een alternatief voor microarrays is om voor elke klinische vraagstelling een multiple kwantitatieve PCR-assay te gebruiken, zoals onlangs ontwikkeld voor patiënten die adjuvante hormonale therapie krijgen (19). Het voordeel van een multiplex PCR-assay is dat deze kan worden uitgevoerd op paraffinemateriaal, waardoor de logistiek een stuk gemakkelijker is.

Referenties

1. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet* 1998;352:930-942.
2. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of randomised trials. *Lancet* 1998;351:1451-1467.
3. Goldhirsch A, Wood C, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ. Meeting highlights: updated international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:3357-3365.
4. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ & Panel Members. Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann Oncol* 2005;16:1569-1583.
5. Eifel P, Axelson JA, Costa J, Crowley J, Curran WJ, Deshler A, Fulton S, Hendricks CB, Kemeny M, Kornblith AB, Markman M, Mayer R, Roter D. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: adjuvant therapy for breast cancer, Nov 1-3, 2000. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:979-989.
6. Wang Y, Klijn JGM, Zhang Y, Sieuwerts AM, Look MP, Yang F, Talantov D, Timmermans M, Meijer-van Gelder ME, Yu J, Jatkoa T, Berns EMJJ, Atkins D, Foekens JA. Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. *Lancet* 2005;365:671-679.
7. Foekens JA, Atkins D, Zhang Y, Sweep CGJ, Harbeck N, Paradiso A, Cufer T, Sieuwerts AM, Talantov D, Timmermans M, Span PN, Tjan-Heijnen VCG, Mangia A, Zito AF, Specht K, Hoefler H, Meijer-van Gelder ME, Golouh R, Schittulli F, Schmitt M, Beex LVAM, Klijn JGM, Wang Y. Multicenter validation of a gene expression based prognostic signature in lymph-node-negative primary breast cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1665-1671.

8. Van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, Schreiber GJ, Kerkhoven RM, Roberts C, Linsley PS, Bernards R, Friend SH. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415: 530-536.
9. Van de Vijver MJ, He YD, van 't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, Schreiber GJ, Peterse JL, Roberts C, Marton MJ, Parrish M, Atsma D, Witteveen A, Glas A, Delahaye L, van der Velde T, Bertelink H, Rodenhuis S, Rutgers ET, Friend SH, Bernards R. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1999-2009.
10. Wang Y, Klijn JGM, Zhang Y, Atkins D, Foekens JA. A 76-gene signature to predict distant metastasis in lymph-node negative breast cancer. *Am J Oncol Rev* 2005; 4: 448-454.
11. Clézardin P, Ebetino FH, Fournier GJ. Bisphosphonates and cancer-induced bone disease: beyond their antiresorptive activity. *Cancer Res* 2005; 65: 4971-4974.
12. Smid M, Wang Y, Klijn JGM, Sieuwerts AM, Zhang Y, Atkins D, Martens JWM, Foekens JA. Genes associated with breast cancer metastasising to bone. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2261-2267.
13. Rio MC, Bellocq JP, Gairard B, Rasmussen UB, Krust A, Koehl C, Calderoli H, Schiff V, Renaud R, Chambon P. Specific expression of the pS2 gene in subclasses of breast cancers in comparison with expression of the estrogen and progesterone receptors and the oncogene ERBB2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 9243-9247.
14. Foekens JA, Rio M-C, Seguin P, van Putten W, Fauque J, Nap M, Klijn JGM, Chambon P. Prediction of relapse and survival in breast cancer patients by pS2 protein status. *Cancer Res* 1990; 50: 3832-3837.
15. Foekens JA, van Putten WLJ, Portengen H, de Koning YWCM, Thirion B, Alexieva-Figusch J, Klijn JGM. Prognostic value of PS2 and cathepsin D in 710 human primary breast tumors: multivariate analysis. *J Clin Oncol* 1993; 11: 899-908.
16. Foekens JA, Portengen H, Look MP, van Putten WLJ, Thirion B, Bontenbal M, Klijn JGM. Relationship of PS2 with response to tamoxifen therapy in patients with recurrent breast cancer. *Br J Cancer* 1994; 70: 1217-1223.
17. Jansen MPH, Foekens JA, van Staveren IL, Dirkszwager-Kiel MM, Ritsier K, Look MP, Meijer-van Gelder ME, Portengen H, Dorssers LCJ, Klijn JGM, Berns EMJJ. Molecular classification of tamoxifen resistant breast carcinomas by gene expression profiling. *J Clin Oncol* 2005; 23: 732-640.
18. Martens JWM, Smid M, Sieuwerts AM, Klijn JGM, Foekens JA. Identification of a gene signature that predicts failure of conventional first line chemotherapy in estrogen receptor-negative recurrent breast cancer patients. San Antonio Breast Cancer Conference, Abstract (December 2006).
19. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, baehner EL, Walker MG, Watson D, Park T, Hiller W, Fisher ER, Wickerham DL, Bryant J, Wolmark N. A multi-gene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 2817-2826.

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 86-87

Interpretatie van tumormarkers door de clinicus

Th. WOBES

De clinicus laat zich bij de behandeling van de patiënt met kanker leiden door een reeks factoren, idealiter op een zodanige wijze dat, gegeven de uitgangssituatie, de patiënt er uiteindelijk het meest bij is gebaat. In de praktijk komt dit neer op een juiste stadiëring van de ziekte en een behandeling die bij het stadium van die ziekte past. Vaak wordt de ziekte van de patiënt letterlijk in beeld gebracht met allerlei diagnostiek. Het bloedonderzoek speelt in de stadiëeringsfase slechts bij een beperkt aantal tumoren een rol, vooral in de fase dat we nog met een primaire tumor te maken hebben zonder metastasen op afstand. En met het bloedonderzoek wordt in dit geval het onderzoek in ruime zin bedoeld. Een tumor is een lichaamseigen groeisel, dat zich meestal pas in het bloed manifesteert indien er organen worden aangetaast die specifieke pathologische parameters geven,

zoals bijvoorbeeld in geval van metastasering in de lever. Toch is er een aantal tumoren die de eigenschap hebben zogenaamde merkstoffen in het serum tot expressie te brengen om van hun aanwezigheid blijk te geven, ook al in een relatief vroeg stadium van de ziekte. De vraag is wat de clinicus met deze tumormerkstoffen in de dagelijkse praktijk kan. In tabel 1 is overzichtelijk weergegeven wat idealiter de betekenis zou kunnen zijn.

De klinische toepassing op dit moment van in het serum aanwezige tumormerkstoffen is sterk afhankelijk van het type tumor. Voor het vaststellen van de kans op de ontwikkeling van ziekte hebben tumormerkstoffen in serum geen betekenis. Als screeningsparameter zou het prostaatspecifiek antigeen (PSA) van betekenis kunnen zijn. Het PSA wordt al bijna 20 jaar bepaald maar heeft door de beperkte specificiteit ook negatieve kanten, die vaak uit het oog worden verloren. De merkstof is populair, in die zin dat het op een bepaalde leeftijd naast de cholesterolspiegel en het ECG in het standaardpakket van screening lijkt thuis te horen.

Correspondentie: prof. dr. Theo Wobbes, Afdeling Heelkunde, UMC St. Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
E-mail: t.wobbes@chir.umcn.nl