

Doelgerichte therapie bij colorectaal carcinoom met *EGFR*-genamplificatie

Targeted therapy for colorectal carcinoma with *EGFR* gene amplification

Auteurs B.C. Kuenen en G. Giaccone

Trefwoorden colorectaal carcinoom, EGFR, epidermale-groefactorreceptor, genamplificatie, monoklonaal antilichaam

Key words colorectal cancer, EGFR, epidermal growth factor receptor, gene amplification, monoclonal antibody

Samenvatting

De behandeling van het gemetastaseerde colorectaal carcinoom is, met het beschikbaar komen van de zogenoemde doelgerichte therapie ('targeted therapy') sterk veranderd. Een van de ontwikkelingen is de blokkering van de epidermale-groefactorreceptor (EGFR) met monoklonale antilichamen zoals cetuximab. Cetuximab alleen en in combinatie met irinotecan blijkt effectief bij de behandeling van het EGFR-positieve, irinotecan-refractaire gemetastaseerde colorectaal carcinoom. Dit heeft geleid tot de registratie van cetuximab als tweede- en derdelijnsbehandeling van het gemetastaseerde colorectaal carcinoom. Momenteel lopen er enkele studies met cetuximab in diverse combinaties als eerstelijnsbehandeling. Cetuximab en andere monoklonale antilichamen gericht tegen EGFR gaan zeer waarschijnlijk een belangrijke plaats innemen in de behandeling van het gemetastaseerde colorectaal carcinoom. Het is om verschillende redenen van groot belang om patiënten die baat hebben bij deze gerichte therapie, te selecteren.

In dit artikel wordt ingegaan op de pathofysiologische rol van EGFR in het colorectaal carcinoom, methoden om aan te tonen of de target aanwezig is en het belang daarvan voor de klinische praktijk. De zeer beperkte data die er zijn, lijken aan te geven dat *EGFR*-genamplificatie aangetoond met fluorescentie-in-situhybridisatie, een voorspellende waarde kan hebben voor de respons op de behandeling van het colorectaal carcinoom door blokkering van EGFR.

(*Ned Tijdschr Oncol* 2006;3:267-72)

Summary

Targeted therapy has changed the treatment of metastatic colorectal cancer dramatically. Inhibition of the epidermal growth factor receptor (EGFR) with monoclonal antibodies such as cetuximab, is an emerging strategy. Cetuximab alone or in combination with irinotecan was shown effective in EGFR-positive irinotecan-refractory colorectal cancer. For this reason, cetuximab has been registered for EGFR-positive irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer in second and third line therapy. Several first-line treatment studies with cetuximab combinations are running and it may be expected that cetuximab and maybe other monoclonal antibodies directed against EGFR will play a much broader role in the future. Obviously, it is necessary to identify those patients who will have benefit of this kind of targeted therapy.

The pathophysiological role of the EGFR, methods of detecting EGFR expression and its consequences for daily clinical practice are discussed in this article. Although clinical data are still limited, they suggest a predictive value of *EGFR* gene amplification identified with fluorescence in situ hybridization, for the response to EGFR inhibition.

Inleiding

Met het beschikbaar komen van doelgerichte therapie ('targeted therapy') is de behandeling van het gemetastaseerde colorectaal carcinoom sterk veranderd. Toevoeging van bevacizumab, een monoklonaal antilichaam (MoAb) gericht tegen de vasculaire endotheliale groeifactor (VEGF), aan standaardchemotherapie is bewezen effectiever en leidt tot een langere ziektevrije en totale overleving bij patiënten met een gemetastaseerd colorectaal carcinoom.¹ Een andere belangrijke target is de epidermale-groeifactor-receptor (EGFR) die op veel tumoren, waaronder het colorectaal carcinoom, voorkomt en een rol speelt in het biologische gedrag van tumoren.

Cetuximab (Erbix[®]) een monoklonaal antilichaam gericht tegen EGFR, is inmiddels geregistreerd als tweede- en derdelijnsbehandeling bij het gemetastaseerde colorectaal carcinoom. Er werd een responspercentage van 22,9 versus 10,8% en een langere mediane ziektevrije overleving van 4,1 versus 1,5 maand gevonden, wanneer cetuximab werd toegevoegd aan irinotecan (Campto[®]) in vergelijking met cetuximabmonotherapie bij patiënten met gebleken resistentie tegen irinotecan.² Er werd geen verschil in overleving gevonden, waarschijnlijk ten gevolge van cross-over naar de combinatiearm. Momenteel lopen er verschillende grote fase III-studies die de toevoeging van cetuximab aan standaard eerstelijnschemotherapie onderzoeken. In de 'Cetuximab combined with irinotecan in first-line therapy for metastatic colorectal cancer' (CRYSTAL)-studie wordt 5-fluorouracil (5-FU), leucovorine plus irinotecan (FOLFIRI-schema) in combinatie met cetuximab vergeleken met FOLFIRI alleen. Een ander voorbeeld is de Nederlandse gerandomiseerde Capecitabine Irinotecan Oxaliplatin (CAIRO)-2-studie, waarin capecitabine plus oxaliplatin (XELOX-schema) plus bevacizumab bij 750 patiënten vergeleken wordt met hetzelfde regime waaraan cetuximab wordt toegevoegd. Het is de verwachting dat cetuximab en andere in ontwikkeling zijnde anti-EGFR-MoAb's een steeds belangrijker plaats in de behandeling van het colorectaal carcinoom zullen innemen.

Het is zaak de patiënten te selecteren die baat zullen hebben bij doelgerichte therapie, om patiënten niet te belasten met een zinloze behandeling en omdat door de inzet van nieuwe doelgerichte therapie de kosten enorm zullen stijgen. Op theoretische gronden lijkt dit in het geval van doelgerichte therapie tegen EGFR een eenvoudige zaak. Een extra immunohistochemische kleuring met de vraag of de target aanwezig is op de tumorcel, kan mogelijk de effectiviteit van

de behandeling voorspellen. Dat dit toch niet zo eenvoudig is, blijkt uit het feit dat patiënten bij wie met een immunohistochemische kleuring op tumorweefsel EGFR niet aantoonbaar was, toch baat hadden bij een behandeling met cetuximab.³ In dit artikel wordt ingegaan op de pathofysiologische rol van EGFR in het colorectaal carcinoom, methoden om aan te tonen of de target aanwezig is en het belang daarvan voor de klinische praktijk.

De rol van EGFR in colorectaal carcinoom

EGFR behoort tot de erbB-familie, die bestaat uit nauw verwante receptoren die gelokaliseerd zijn op de celmembranen, te weten: EGFR (erbB1 ofwel HER1), erbB2 (HER2), erbB3 (HER3) en erbB4 (HER4).⁴ EGFR wordt op veel cellen tot expressie gebracht en bevindt zich als monomeer in de celmembranen. De receptor bestaat uit 3 essentiële domeinen. Aan het extracellulair gelegen domein binden de liganden, waarvan de voornaamste EGF, 'transforming growth factor' (TGF)- α , 'amphiregulin', 'betacellulin' en 'epiregulin' zijn. Dit domein is via een transmembraandomein verbonden met het intracellulaire domein waarvan de belangrijkste component het tyrosinekinasegedeelte is. Wanneer een ligand aan de receptor bindt, vindt er homodimerisatie plaats van twee identieke monomeren of heterodimerisatie met een ander lid van de erbB-familie. Na de dimerisatie volgt een intracellulaire conformatieverandering van het tyrosinekinasegedeelte, waardoor autofosforylering van de receptor optreedt. Vervolgens worden intracellulaire signaaltransductieroutes geactiveerd zoals de PLC- γ 1-, Ras-Raf-MEK-MAP-kinase-, PI3K-, Akt-, Src- en PAK-JNKK-JNK-cascade. Afhankelijk van het celtype en andere regulatoren leidt dit tot proliferatie, differentiatie, migratie, transformatie en remming van apoptose.

De EGFR-sigtaaltransductie is normaal gesproken ingebed en strak gecontroleerd binnen een netwerk dat epitheliale celgroei en differentiatie reguleert. Ten gevolge van verschillende mechanismen zoals mutaties en deleties in het *EGFR*-gen, toegenomen expressie/amplificatie van het gen of polysomie van chromosoom 7, waarop het *EGFR*-gen gelegen is, ontstaat disregulatie van de EGFR-signalering, wat een rol speelt bij de carcinogenese en tumorgroei van onder andere colorectaal carcinomen. Mutaties en deleties kunnen aanleiding geven tot voortdurende activering van de receptor zonder dat sprake is van ligandbinding. Een van de meest voorkomende mutaties (EGFRvIII-mutant) in humane tumoren is

een deletie van de exonen 2-7. Bij patiënten met deze deletie ontbreekt een deel van het extracellulaire domein en vindt bovendien ligandafhankelijke fosforylering plaats, waardoor EGFR voortdurend actief is.⁵ Het is mogelijk dat in een tumor zowel een amplificatie als een mutatie van *EGFR* voorkomt. Naast veranderingen in EGFR, kan ook de toegenomen productie van EGFR-liganden door de tumor leiden tot een autocriene loop van ligand-gemedieerde groei, hetgeen voor het colorectaal carcinoom in preklinische modellen is aangetoond. Voorts lijkt de EGFR-as een rol te spelen in de angiogenese, aangezien stimulatie van de EGFR-as leidt tot een verhoogde expressie van VEGF, de belangrijkste stimulator van bloedvatnieuwvorming. Het is algemeen geaccepteerd dat overexpressie van EGFR in 60-80% van de colorectaal carcinomen, hoewel afhankelijk van de gebruikte methoden en definitie van positiviteit, aanwezig is. Tevens zijn er aanwijzingen dat EGFR-expressie gecorreleerd is met een slechtere prognose.² Derhalve lijkt het blokkeren van de EGFR-as een aantrekkelijke insteek voor de behandeling, hetgeen zich, gezien de behaalde klinische resultaten, inmiddels bewezen heeft.

EGFR-blokkerende therapie

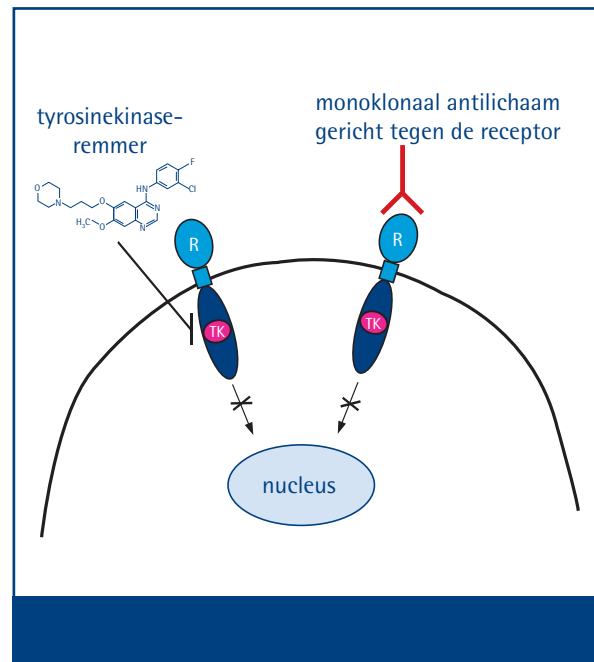
De 2 momenteel klinisch toepasbare methoden van blokkering van de EGFR-as zijn het geven van MoAb's of tyrosinekinaseremmers (tyrosine kinase inhibitor; TKI, zie *Figuur 1*).

Monoklonale antilichamen

De eerste methode omvat de blokkering van het ligandbindende extracellulaire domein van de receptor met MoAb's. Verschillende antilichamen, zowel chimere die bestaan uit een in muizen vervaardigd antigeenbindend gedeelte met een humane Fc-staart, als volledig humane antilichamen, zijn ontwikkeld en bevinden zich in verschillende stadia van klinische toepasbaarheid bij het colorectaal carcinoom. De belangrijkste zijn cetuximab en panitumumab. De antilichamen hebben een ongeveer 5-maal hogere affiniteit voor EGFR dan de 2 voornaamste liganden EGF en TGF α .

Tyrosinekinaseremmers

Het andere aangrijpingspunt voor de blokkering van de EGFR-as is het intracellulair gelegen tyrosinekinasedomein. Speciaal ontworpen kleine moleculen, de zogenoemde TKI's, binden aan de ATP-bindingsplaats en verhinderen daarmee autofosforylering van



Figuur 1. Schematische weergave van de epidermale-groei-factorreceptor met het extracellulaire ligandbindende gedeelte (R), het intracellulaire tyrosinekinasegedeelte en de wijze waarop de receptor geblokkeerd kan worden. TK=tyrosinekinase.

de receptor na binding van het ligand. De belangrijkste zijn gefitinib en erlotinib. Aangezien er in het tyrosinekinasegedeelte grote homologie bestaat tussen de verschillende leden van de erBB-familie, blokkeren sommige TKI's meerdere receptoren tegelijkertijd. Ook zijn TKI's in staat gemuteerde en geamplificeerde EGFR's te blokkeren. De affiniteit voor de ATP-bindingsplaats kan echter veranderd zijn, wat afhankelijk van de conformatieverandering van de ATP-bindingsplaats ten gevolge van de opgetreden mutatie, tot resistentie kan leiden. Afhankelijk van de oorzaak van de disregulatie van de EGFR-as door amplificatie, mutatie dan wel overproductie van een ligand, is het voorstelbaar dat de vorm van EGFR-blokkerende behandeling van belang kan zijn voor het behalen van resultaat, zoals is aangetoond in niet-kleincellig longcarcinoom (NKCLC)-cellijnen.^{2,6}

EGFR-expressiebepalingen

Er is een aantal technieken beschikbaar waarmee EGFR op eiwitniveau dan wel op DNA/RNA-niveau aangetoond kan worden. Voor het aantonen van EGFR op eiwitniveau is de meest gebruikte methode de immunohistochemische kleuring. Fluorescentie-

Tabel 1. Overzicht van de resultaten van de studie van Moroni et al. naar de genetische veranderingen in *EGFR* (aantal genkopieën en mutatieprofiel) bij patiënten die behandeld zijn met monoklonale antilichamen gericht tegen EGFR alleen of in combinatie met chemotherapie.

	Behandeling		EGFR-nucleus-ratio $\geq 3^*$	Mutatie in exon 18/19/21
	anti-EGFR-MoAb	anti-EGFR-MoAb + chemotherapie		
Responders (n=10)	6	3	8 van de 9	0 van de 11
Non-responders (n=21)	14	6	1 van de 20	1 van de 20

*EGFR=epidermale-groefactorreceptor, MoAb=monoklonaal antilichaam, *=2 patiënten niet evalueerbaar.*

in-situhybridisatie (FISH) is bij uitstek geschikt om genamplificatie of polysomie van chromosoom 7 aan te tonen. Met behulp van 'direct sequencing' is het mogelijk om mutaties te detecteren.

Effecten van therapie in relatie tot expressie, amplificatie en mutaties van EGFR

Bij het colorectaal carcinoom is, zij het in voorsnog beperkte mate, ervaring opgedaan met de verschillende bepalingsmethoden van EGFR-expressie. Nagahara et al. analyseerden 33 colorectaal carcinomen op de aanwezigheid van mutaties.⁷ In 4 (12%) tumoren vonden zij mutaties in het tyrosinekinas domein van *EGFR*; dit waren geen deleties, maar puntmutaties in de exonen 19 en 20. Deze puntmutaties zijn in het NKCLC gecorreleerd met respons op gefitinib. De patiënten in deze studie werden echter niet behandeld met een EGFR-remmer, zodat geen conclusies getrokken konden worden met betrekking tot de klinische betekenis van de gevonden mutaties. Ogino et al. daarentegen onderzochten immunohistochemisch de EGFR-expressie en deden een mutatieanalyse in colorectaal carcinomen van 31 patiënten die werden behandeld met irinotecan, 5-FU en leucovorine in combinatie met gefitinib.⁸ Bij 85% kon EGFR-expressie aangetoond worden. Bij 41% was dit in zwakke mate (1+) en bij 44% in sterkere mate (2+ en 3+), wat echter niet gecorreleerde met de respons. In 1 tumor werd een nieuwe mutatie in exon 18 gevonden, de Gly724Ser-mutatie. Een in het NKCLC beschreven mutatie, Gly719Ser, is geassocieerd met gevoeligheid voor gefitinib. Bij de patiënt met de mutatie ter hoogte van codon 724 was echter geen sprake van een respons, alleen van stabiele ziekte gedurende 6 maanden op de gegeven

behandeling. Er is geen functionele analyse verricht van de nieuwe mutatie. Het kan zijn dat deze substitutie geen aanleiding geeft tot activering van EGFR. De grootste serie mutatieanalyses is verricht door Barber et al.⁹ Zij vonden in 293 colorectaal carcinomen slechts 1 *EGFR*-mutatie. Wellicht is dit mede de verklaring voor de geringe effectiviteit van gefitinib- of erlotinibmonotherapie in fase II-studies bij patiënten met colorectaal carcinomen.^{10,11} Ook in combinatie met chemotherapie is de mate van effectiviteit van gefitinib beperkt.^{12,13} Een fase I-studie die de combinatie FOLFIRI plus erlotinib onderzocht, werd bovendien voortijdig afgebroken vanwege een verhoogde mate van toxiciteit die voornamelijk bestond uit diarree en neutropenie.¹⁴ Concluderend worden bij colorectaal carcinomen in zeer lage frequentie activerende mutaties gevonden en is de klinische effectiviteit van TKI's zeer beperkt.

Van MoAb's gericht tegen EGFR is bij het colorectaal carcinoom zowel als monotherapie als in combinatie met chemotherapie wel effectiviteit beschreven.^{2,15} De achterliggende moleculaire mechanismen zijn niet goed bekend en er zijn vrijwel geen data beschikbaar van de beste selectiemethode voor EGFR-positiviteit. Alle studies met cetuximab tot dusver werden verricht bij patiënten met tumoren waarbij EGFR-positiviteit gedefinieerd was als immunohistochemische aankleuring van ten minste 1 tumorcel, hetgeen niet erg discriminerend is. De meest interessante data tot nu toe, zijn verkregen door Moroni et al. (zie *Tabel 1*).¹⁶ Zij hebben in tumormateriaal van 31 patiënten met immunohistochemisch positieve EGFR-tumoren (gedefinieerd als ten minste 1% van de tumorcellen positief), die behandeld werden met of cetuximab of panitumumab alleen dan wel in combinatie met chemotherapie,

Aanwijzingen voor de praktijk

1. Patiënten met een gemetastaseerd colorectaal carcinoom dienen in studieverband behandeld te worden.
2. Moleculaire analyse van tumormateriaal zou bij deze studies standaard moeten plaatsvinden.

gekeken naar het aantal genkopieën en het mutatieprofiel van EGFR. Met uitzondering van 1 patiënt, vonden Moroni et al. geen mutaties in *EGFR*, exonen 18, 19 en 21. Deze patiënt met een Gly857Arg-mutatie in exon 21 reageerde niet op de behandeling. Met FISH (2 niet evalueerbaar) bleek dat 8 van de 9 responders een verhoogd aantal genkopieën (EGFR-nucleusratio ≥ 3) had, terwijl dat maar bij 1 van de 20 non-responders het geval was. Dit verschil was statistisch significant en leek niet samen te hangen met de gegeven behandeling; een MoAb alleen (6 van de 9 responders en 14 van de 20 non-responders) dan wel een MoAb in combinatie met chemotherapie (3 van de 9 responders en 6 van de 20 non-responders). Voor de volledigheid dient opgemerkt te worden dat er in de groep van non-responders 6 patiënten met een stabiele ziekte met een duur van >16 weken zaten. Bij geen van deze patiënten werd een verhoogde EGFR-nucleusratio aangetoond (1 patiënt niet evalueerbaar).

Hoe het te verklaren valt dat *EGFR*-genamplificatie niet altijd aanleiding geeft tot een evidente immunohistochemische aankleuring van EGFR, is niet duidelijk. Technische problemen en een onvoldoende gevoelige immunohistochemische test lijken de meest voor de hand liggende verklaringen. De bevindingen van Moroni et al. lijken aan te geven dat *EGFR*-genamplificatie een voorspellende waarde zou kunnen hebben voor de respons op de behandeling met anti-EGFR-MoAb's. Er lijkt deels sprake van een parallel met de Her2/neu-bepaling bij het mammacarcinoom, waarbij bij twijfel over de mate van immunohistochemisch aangetoonde Her2/neu-overexpressie met FISH meer duidelijkheid wordt verkregen. De data van Moroni et al. zijn echter verkregen bij een zeer klein aantal patiënten en het is noodzakelijk dit onderzoek prospectief te herhalen in een grote patiëntenpopulatie. Tevens is het noodzakelijk om de verschillende EGFR-expressiebepalingen te vergelijken en eventueel te combineren, zoals ook gedaan is bij het mammacarcinoom en NKCLC.¹⁷⁻¹⁹

Conclusie

Remming van EGFR met MoAb's zal in de nabije toekomst een belangrijke plaats innemen in de behandeling van het colorectaal carcinoom. Het selecteren van patiënten die baat zullen hebben bij deze behandeling, is van groot belang. Momenteel zijn er nog onvoldoende gegevens beschikbaar die aangeven wat de beste selectiemethode is. De zeer beperkte data die er zijn, lijken aan te geven dat *EGFR*-genamplificatie aangetoond met FISH een voorspellende waarde zou kunnen hebben voor de respons op de behandeling met anti-EGFR-MoAb's.

Referenties

1. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;350:2335-42.
2. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004;351:337-45.
3. Chung KY, Shia J, Kemeny NE, Shah M, Schwartz GK, Tse A, et al. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2005;23:1803-10.
4. Lockhart C, Berlin JD. The epidermal growth factor receptor as a target for colorectal cancer therapy. *Semin Oncol* 2005;32:52-60.
5. Kuan CT, Wikstrand CJ, Bigner DD. EGF mutant receptor VIII as a molecular target in cancer therapy. *Endocr Relat Cancer* 2001;8:83-96.
6. Mukohara T, Engelman JA, Hanna NH, Yeap BY, Kobayashi S, Lindeman N, et al. Differential effects of gefitinib and cetuximab on non-small-cell lung cancers bearing epidermal growth factor receptor mutations. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1185-94.
7. Nagahara H, Mimori K, Ohta M, Utsunomiya T, Inoue H, Barnard GF, et al. Somatic mutations of epidermal growth factor receptor in colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res*

2005;11:1368-71.

8. Ogino S, Meyerhardt JA, Cantor M, Brahmandam M, Clark JW, Namgyal C, et al. Molecular alterations in tumors and response to combination chemotherapy with gefitinib for advanced colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:6650-6.

9. Barber TD, Vogelstein B, Kinzler KW, Velculescu VE. Somatic mutations of EGFR in colorectal cancers and glioblastomas. *N Engl J Med* 2004;351:2883.

10. Mackenzie MJ, Hirte HW, Glenwood G, Jean M, Goel R, Major PP, et al. A phase II trial of ZD1839 (Iressa) 750 mg per day, an oral epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, in patients with metastatic colorectal cancer. *Invest New Drugs* 2005;23:165-70.

11. Oza AM, Townsley CA, Siu LL, Major P, Hedley D, Tsao M, et al. Phase II study of erlotinib (OSI-774) in patients with metastatic colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22 (abstract 785).

12. Kuo T, Cho CD, Halsey J, Wakelee HA, Advani RH, Ford JM, et al. Phase II study of gefitinib, fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin therapy in previously treated patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:5613-9.

13. Blanke CD. Gefitinib in colorectal cancer: if wishes were horses. *J Clin Oncol* 2005;23:5446-9.

14. Messersmith WA, Laheru DA, Senzer NN, Donehower RC, Grouleff P, Rogers T, et al. Phase I trial of irinotecan, infusional 5-fluorouracil, and leucovorin (FOLFIRI) with erlotinib (OSI-774): early termination due to increased toxicities. *Clin Cancer Res* 2004;10:6522-7.

15. Saltz LB, Meropol NJ, Loehrer PJ, Needle MN, Kopit J, Mayer RJ. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor. *J Clin Oncol* 2004;22:1201-8.

16. Moroni M, Veronese S, Benvenuti S, Marrapese G, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, et al. Gene copy number for

epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to antiEGFR treatment in colorectal cancer: a cohort study. *Lancet Oncol* 2005;6:279-86.

17. Wiley EL, Diaz LK. High-quality HER-2 testing: setting a standard for oncologic biomarker assessment. *JAMA* 2004;291:2019-20.

18. Yaziji H, Goldstein LC, Barry TS, Werling R, Hwang H, Ellis GK, et al. HER-2 testing in breast cancer using parallel tissue-based methods. *JAMA* 2004;291:1972-7.

19. Tsao MS, Sakurada A, Cutz JC, Zhu CQ, Kamel-Reid S, Squire J, et al. Erlotinib in lung cancer -- molecular and clinical predictors of outcome. *N Engl J Med* 2005;353:133-44.

Ontvangen 5 december 2005, geaccepteerd 3 mei 2006.

Correspondentieadres

Dr. B.C. Kuenen, internist-oncoloog
Prof. dr. G. Giaccone, internist-oncoloog

VU medisch centrum
Afdeling Geneeskundige Oncologie
Postbus 7057
1007 MB Amsterdam
Tel.: 020 444 43 00
E-mailadres: b.kuenen@vumc.nl

Correspondentie graag richten aan de eerste auteur.

Belangenconflict: geen gemeld.
Financiële ondersteuning: geen gemeld.