

PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/19222>

Please be advised that this information was generated on 2017-12-05 and may be subject to change.

ISBN: 90-9016505-3

HET METABOLISME VOLOP IN BEWEGING

PROF. DR. IR. J.M.F. TRIJBELS

HET METABOLISME VOLOP IN BEWEGING

Rede in verkorte vorm uitgesproken
bij het aftreden als hoogleraar in de Klinische Biochemie
vanwege de Stichting Nijmeegs Universiteitsfonds (SNUF)
aan de Faculteit der Medische Wetenschappen/UMC St. Radboud
van de Katholieke Universiteit Nijmegen op
vrijdag 13 december 2002

door

Prof. dr. ir. J.M.F. Trijbels



Katholieke *Universiteit* Nijmegen

Mijnheer de Rector Magnificus, zeer gewaardeerde toehoorders,

Exact honderd jaren na de beschrijving van alkaptonurie, de eerste erfelijke stofwisselingsziekte, door Garrod in 1902, mag ik een rede uitspreken bij gelegenheid van mijn afscheid als hoogleraar in de klinische biochemie met aandachtsgebied erfelijke stofwisselingsziekten. Het is niet mijn bedoeling in het tijdsbestek dat mij ter beschikking staat in vogelvlucht de ontwikkeling van dit boeiende vakgebied over deze hele eeuw te belichten. Ik zal mij beperken tot een terugblik over de afgelopen 35 jaren die ik met veel genoegen, als staflid van de afdeling Kindergeneeskunde, aan diagnostiek en onderzoek op het gebied van erfelijke metabole ziekten heb mogen wijden.

Mijn belangstelling voor metabool onderzoek begon reeds in 1964 toen ik onder de bezielende leiding van prof. Vogels startte met een onderzoek op het gebied van de stofwisseling van allantoïne in micro-organismen. Allantoïne wordt in micro-organismen gevormd uit urinezuur m.b.v. het enzym uricase. Bij de mens is urinezuur het eindproduct van de afbraak van purines, aangezien bij de mens uricase niet voorkomt. Ik heb onder zijn leiding met bijzonder veel plezier ruim 3 jaren aan het promotieonderwerp over het metabolisme van allantoïne in bacteriën, gisten en schimmels gewerkt. In die periode werd ongetwijfeld de basis gelegd voor de rest van mijn carrière. De tweede fase hiervan begon 3 jaren later, op 1 mei 1967 op de afdeling Kindergeneeskunde, destijds onder de uitstekende leiding van wijlen prof. Schretlen. Ik werd aangesteld als staflid van het voormalige laboratorium voor Kindergeneeskunde en Chirurgie onder leiding van wijlen dr. Van Munster. Ik startte met de opleiding tot klinisch-chemicus en ik werd tevens belast met het ontwikkelen van de chemi-

sche diagnostiek op het terrein van erfelijke metabole ziekten. De diagnostische mogelijkheden waren destijds uiterst beperkt en waren in eerste instantie vooral gericht op het opsporen van patiënten met een erfelijke stoornis in de stofwisseling van aminozuren. Om U een indruk te geven over de explosieve ontwikkeling van de diagnostiek van erfelijke metabole ziekten wil ik U enkele cijfers noemen. Toen ik in Nijmegen op de afdeling Kindergeneeskunde startte met deze diagnostiek mocht ik maximaal 2 dagen in de week aan deze activiteit besteden. Ik had bovendien halftime een analiste voor dit doel ter beschikking. Momenteel zijn in het huidige laboratorium voor Kindergeneeskunde en Neurologie zeven vaste stafleden vrijwel permanent bezig met diagnostiek en onderzoek op het terrein van erfelijke metabole ziekten. Daarnaast participeren aan deze activiteit twee à drie postdocs en zijn gemiddeld plusminus 15 junior-onderzoekers bezig met een promotieonderzoek op dit gebied. Last but not least zij vermeld dat bovendien plusminus 50 analisten, secretaresses enz. op dit terrein werkzaam zijn. Hieruit moge blijken dat het onderzoek naar stoornissen in het metabolisme volop in beweging is. In dit verband neemt Nederland in Europa en daarbuiten een unieke plaats in. Dankzij de unieke organisatie van dit onderzoek vervult Nederland hierbij een voorbeeldfunctie. De stormachtige ontwikkeling op het gebied van metabole ziekten is vooral te danken aan de oprichting van de zgn. Klinisch Genetische Centra in alle academische ziekenhuizen in Nederland, eind zeventiger jaren. Deze centra zijn met name tot stand gekomen dankzij het initiatief van de Rotterdamse emeritus-hoogleraar Humane Genetica prof. dr. H. Galjaard. In zijn afscheidscollege op 7 mei 2001 vermeldt hij dat jaarlijks circa 50 miljoen euro door de zorgverzekeraars geïnvesteerd wordt in de klinische genetica

in de meest brede zin van het woord, te weten het pre- en postnatale chromosomenonderzoek, de pre- en postnatale biochemische diagnostiek, de pre- en postnatale DNA-diagnostiek, het ultrageluidonderzoek en de genetic counseling. Deze klinisch genetische diagnostiek heeft zich sedert de start van de klinisch genetische centra een vaste plaats in de gezondheidszorg verworven. Werden, aldus Galjaard, in de jaren 1971/73 circa 7.000 patiënten in Nederland onderzocht op het gebied van de klinische genetica, in 1998 was dit aantal vertienvoudigd tot circa 70.000.

Uit het voorgaande, dames en heren, moge reeds blijken dat het metabole onderzoek in Nederland niet heeft stilgestaan. Integendeel, het is volop in beweging. Dit kan ook afgeleid worden uit de inventarisatie van publicaties over de laatste 10 jaren van leden van de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie. Liefst 800 publicaties handelen over metabool onderzoek. In dit kader wil ik ook noemen de toenemende belangstelling voor metabool onderzoek in de niet-academische algemene ziekenhuizen, waar in een aantal klinisch-chemische laboratoria, zij het op beperkte schaal, op adequate wijze screennend metabool onderzoek wordt verricht. In dit opzicht is het standpunt van de klinisch-genetische centra de laatste jaren duidelijk veranderd. Toen ik op 20 januari 1989 mijn inaugurale rede hield, heb ik nadrukkelijk gesteld dat deze bijzondere vorm van diagnostiek voorbehouden dient te blijven voor de klinisch-genetische centra in academische ziekenhuizen. Ik citeer uit mijn oratie: "Er is momenteel echter een ontwikkeling gaande, waarbij in toenemende mate deze diagnostiek in klinisch-chemische laboratoria van algemene ziekenhuizen wordt uitgevoerd. Alhoewel er geen enkele twijfel bestaat dat deze diagnostiek bepalingstechnisch in deze laboratoria verricht kan

worden, is deze ontwikkeling ongewenst en wel om de volgende redenen. De acht klinisch-genetische centra zijn speciaal in het leven geroepen om onder meer deze diagnostiek te verrichten, waarbij destijds als uitgangspunt gold dat de reeds aanwezige deskundigheid op deze specifieke terreinen als basis voor verdere ontwikkeling zou moeten dienen. Concentrering in deze centra leidt tot een efficiënte aanpak van deze diagnostiek en bundeling van ervaring door regelmatige confrontatie met diverse erfelijke stofwisselingsziekten. Bovendien kunnen onnodige investeringen in personeel en materiële middelen voorkomen worden. Deskundige interpretatie van de analysesresultaten en de daaruit voortvloeiende informatie aan de verwijzend specialist is slechts mogelijk bij frequente confrontatie met deze problematiek". Einde van dit citaat. Als ik nu meedeel dat Nijmegen op het terrein van de metabole diagnostiek inmiddels officiële samenwerkingsverbanden heeft afgesloten met de klinisch-chemische laboratoria van het St. Elisabeth Ziekenhuis te Tilburg, van het Medisch Spectrum Twente te Enschede, van het Twenteborg ziekenhuis te Almelo en het Streekziekenhuis Midden-Twente te Hengelo, vraagt U zich ongetwijfeld af hoe dit te rijmen valt met hetgeen ik net uit mijn oratie geciteerd heb. Ik zal trachten dit te verduidelijken. In eerste instantie bleek alras dat de perifere werkzame collegae op het terrein van de metabole ziekten geen boodschap hadden aan het standpunt van de klinisch-genetische centra. Geleidelijk veranderde het standpunt van de hoofden van de metabole laboratoria, verenigd in het landelijke platform. Er werd een soort gedoogbeleid gehanteerd, dat er uiteindelijk toe leidde dat in samenwerking met de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie strakke criteria werden geformuleerd, waaraan perifere laboratoria moesten vol-

doen om de officiële status van subcentrum van een KGC te verkrijgen. Eén van de belangrijkste criteria werd gevormd door de eis dat in het subcentrum minimaal één klinisch-chemicus de zogenaamde EMZ (erfelijke metabole ziekten) registratie zou dienen te bezitten. EMZ was inmiddels het eerste officieel erkend deelspecialisme binnen de NVKC geworden, hetgeen geregistreerde klinisch-chemici de mogelijkheid biedt tot het verkrijgen van de EMZ aantekening. Inmiddels is duidelijk geworden dat het verrichten van screenend metabool onderzoek in deze subcentra een positief effect in de betreffende ziekenhuizen kan hebben met betrekking tot de belangstelling voor metabole ziekten. Met name dit laatste aspect heeft mijn persoonlijk standpunt in deze kwestie, van negatief zoals verwoord in mijn oratie, doen omslaan in positief, zoals nu verwoord in mijn afscheidscollege. Gaarne wil ik nog opmerken dat de NVKC destijds een wijs besluit genomen heeft tot het instellen van aandachtsgebieden. Tevens wil ik gaarne vermelden dat de NVKC, naast het instellen van het aandachtsgebied EMZ, het belang van de metabole diagnostiek en het onderzoek op dit gebied extra geaccentueerd heeft door het instellen van een bijzondere leerstoel in de klinische chemie door de Noyons' Stichting. Deze leerstoel wordt momenteel bezet door prof. Wevers uit ons laboratorium.

Metabole ziekten in historisch perspectief

In de inleiding van mijn afscheidsrede heb ik reeds gezegd dat ik globaal een indruk zal trachten te geven over de ontwikkeling van het deelspecialisme metabole ziekten over de afgelopen 35 jaren.

Uiteraard zal ik hierbij zeer selectief te werk moeten gaan. Mijn eerste opdracht in 1967 bestond uit het opzetten van een unit voor diagnostiek van stoornissen in de stofwisseling van aminozuren. Hiertoe stond mij een kwantitatieve aminozuuranalysator ter beschikking. Een volledige analyse van serum of urine kostte, inclusief de interpretatie van de analyseresultaten, plusminus 24 uren. U kunt zich voorstellen dat ik nogal geprikkeld raakte toen een arts mij destijds belde en verontwaardigd opmerkte dat hij 3 uur geleden serum naar ons lab gestuurd had voor een cito-aminozuuranalyse en nog steeds geen uitslag ontvangen had. Momenteel kan de uitslag, indien de klinische toestand van patiënt dit absoluut vereist, in die tijd ter beschikking gesteld worden. Hieruit moge blijken dat de techniek op dit terrein ongelofelijke vooruitgang heeft geboekt. Een belangrijke ontwikkeling op het gebied van de diagnostiek van erfelijke metabole ziekten bestond destijds uit de introductie van de gaschromatografie-massaspectrometrie. In eerste instantie werd deze techniek geïntroduceerd voor het opsporen van patiënten met een zgn. organisch zuur syndroom, later uitgebreid met o.a. de diagnostiek van peroxisomale ziekten en stoornissen in de mitochondriële vetzuur-oxydatie. De aanschaf van een tandem-massaspectrometer, enkele jaren geleden, gerealiseerd dankzij de medewerking van het KGC-bestuur, mag ongetwijfeld als een mijlpaal op het terrein van de diagnostiek van erfelijke metabole ziekten beschouwd worden. Hierdoor konden belangrijke diagnostische uitbreidingen gerealiseerd worden. Ik denk hierbij aan de implementatie in ons diagnostisch programma van het serumcarnitine-profiel, hetgeen belangrijke informatie oplevert ter opsporing van patiënten met o.a. stoornissen in de vetzuuroxydatie en ter opsporing van patiënten met organisch zuur syndromen. Talrijke

andere toepassingen zijn mogelijk, welke momenteel in ons lab ontwikkeld worden. Ik noem in dit verband de diagnostiek van stoornissen in de stofwisseling van purines/pyrimidines, welke decennia lang met behulp van HPLC verricht werd en welke binnen afzienbare tijd sneller en efficiënter m.b.v. de tandem-massaspectrometer uitgevoerd zal worden. Het is reeds mogelijk de controle op therapie van PKU-patiënten in bloedspots m.b.v. tandem-massaspectrometrie te verrichten. Het ligt in de lijn der verwachting dat de metabole screening van patiënten, welke verdacht worden te lijden aan een erfelijke stofwisselingsziekte, in de nabije toekomst in toenemende mate m.b.v. tandem-massaspectrometrie verricht zal worden. De screening zal daardoor sneller, efficiënter en goedkoper worden. Een andere belangrijke toepassing van tandem MS zal naar verwachting in Nederland op termijn geïntroduceerd worden, namelijk de neonatale screening op erfelijke metabole ziekten. Hierdoor wordt het mogelijk alle pasgeborenen in Nederland op enkele tientallen van deze ziekten te screenen. Dr. Loeber heeft daar vanochtend tijdens het symposium reeds uitvoerig over gesproken. Deze neonatale screening zal ertoe leiden dat patiënten welke aldus in een vroeg stadium gediagnosticeerd worden, op een adequate wijze behandeld kunnen worden, voor zover het een behandelbare ziekte betreft, om zodoende ernstige klinische verschijnselen zoveel mogelijk te voorkomen. De ontwikkelingen welke ik tot nu toe aan de orde heb gesteld, hebben betrekking op de zogenaamde basisdiagnostiek van metabole ziekten, waarmee bedoeld wordt het uiterst belangrijke diagnostisch onderzoek in lichaamsvloeistoffen van patiënten op afwijkingen in het metabolietenpatroon. In dit kader mag niet onvermeld blijven de introductie in ons laboratorium van de in vitro NMR techniek door collega Wevers. Deze tech-

niek is uitermate geschikt voor het identificeren van onbekende metabolieten en toepassing ervan heeft ertoe geleid dat drie nieuwe erfelijke stofwisselingsziekten werden opgespoord. Een andere zeer belangrijke ontwikkeling, welke in het kader van genetische metabole aandoeningen niet onvermeld mag blijven, betreft de introductie van de micro-array techniek, waarmee de expressie van duizenden genen gelijktijdig bestudeerd kan worden. Dankzij de introductie van deze techniek in het UMC St Radboud door prof. Geurts van Kessel en de daaruit voortvloeiende expertise zijn in ons laboratorium, in samenwerking met prof. Smeitink en dr. Blom, initiatieven ontwikkeld de micro-array technologie toe te passen o.a. bij de bestudering van mitochondriële ziekten en van hyperhomocysteinemie. Recent werd in ons laboratorium, in nauwe samenwerking met de klinici dr. Van Engelen, neuroloog, en prof. Smeitink, kinderarts, door dr. Van den Heuvel en prof. Wevers de veelbelovende en fascinerende proteomicstechnologie geïntroduceerd. De Raad van Bestuur steunt dit initiatief, mits deze techniek UMC-breed toegankelijk is. Uit een inmiddels gehouden enquête in het UMC is gebleken dat de belangstelling voor proteomics zeer groot is. De proteomicsfaciliteit maakt het mogelijk de expressie van genen, op het niveau van de eiwitten, grootschalig te bestuderen. In het kader van metabole ziekten zal de proteomicstechniek in eerste instantie toegepast worden op het gebied van stoornissen in de mitochondriële energievoorziening. Ik kom daar aanstonds nog even op terug. Daarnaast zal de proteomicsfaciliteit, in nauwe samenwerking met prof. Hoogerbrugge, aangewend worden ten behoeve van de kinderoncologie. Gezien het grote belang van de verdere ontwikkeling van deze techniek in ons laboratorium doe ik vanaf deze plaats een beroep op de

Raad van Bestuur en op het bestuur van het KGC de proteomics-faciliteit op adequate wijze te blijven ondersteunen. Deze techniek zal ongetwijfeld een paradepaardje in ons UMC gaan vormen.

Mocht U op grond van het voorgaande de indruk hebben gekregen dat de ontwikkeling op het gebied van de erfelijke metabole aandoeningen voornamelijk bestond uit het initiëren en implementeren van technische hoogstandjes, dan is een nadere toelichting in deze dringend noodzakelijk. Uiteraard hebben de ontwikkeling en introductie van deze nieuwe, geavanceerde technieken een grote bijdrage geleverd aan de verbetering en uitbreiding van de zeer specialistische diagnostiek. Toepassing van deze technieken in het wetenschappelijk onderzoek heeft er nadrukkelijk toe geleid dat ons inzicht in het fascinerende metabolisme van de menselijke cel op een opzienbarende wijze is toegenomen en ongetwijfeld in de zeer nabije toekomst nog verder zal toenemen. Laat ik als voorbeeld noemen de toepassing van deze technieken op het terrein van mitochondriële ziekten.

Falende mitochondriën

In zijn oratie op 21 juni 2001 stond prof. J. Smeitink uitvoerig stil bij het begrip “falende mitochondriën”. Als clinicus behandelde hij achtereenvolgens de initiële presentatie en diagnostiek, de speciële diagnostiek en het cellulair perspectief van deze doorgaans ernstige ziekten in de mitochondriële energievoorziening. Als klinisch-chemicus ben ik drie decennia lang betrokken geweest bij de ontwikkeling van de biochemische diagnostiek op dit terrein. In mijn oratie op 20

januari 1989 heb ik uitvoerig geschetst hoe de introductie van deze diagnostiek in het begin van de zeventiger jaren in de afdeling Kindergeneeskunde tot stand is gekomen. Ik zal dit nu niet herhalen. Voor belangstellenden onder U heb ik nog een, enigszins vergeeld, exemplaar van mijn oratie ter beschikking. Desalniettemin wil ik toch in dit afscheidscollege aandacht besteden aan dit fascinerende onderdeel van erfelijke metabole ziekten. Ontwikkeling van dit vakgebied vereist een gedegen samenwerking tussen clinici, waarbij ik met name kinderartsen en neurologen wil noemen, biochemici, klinisch-chemici, celbiologen, morfologen, moleculair biologen en genetici. Deze multidisciplinaire benadering heeft in Nijmegen altijd hoog in het vaandel gestaan, hetgeen de basis gelegd heeft voor de vooraanstaande positie welke de Nijmeegse groep thans mondiaal heeft ingenomen. Nadat prof. Monnens, prof. Veerkamp en ik met succes de eerste promovendus op het gebied van mitochondriële ziekten, te weten prof. Willems, hadden begeleid, nam prof. Sengers het initiatief dit onderzoek met name te richten op mitochondriële myopathieën. Aanvankelijk werd in ons laboratorium het accent gelegd op het ontwikkelen van geavanceerde biochemische technieken voor diagnostische doeleinden. Dankzij de inspanningen verricht door analisten, stafleden van het laboratorium, clinici van de afdeling Kindergeneeskunde en Neurologie, talrijke promovendi en vele studenten werd in ons laboratorium een diagnostisch bepalingenpakket op het terrein van mitochondriële ziekten ontwikkeld dat vrijwel uniek is in de wereld. In het midden van de tachtiger jaren werd het accent verlegd naar de genetica, in eerste instantie gericht op het mitochondriële DNA. Het mitochondrion is een uniek celorganel dat zijn eigen genoom bezit. Het mitochondriële DNA is een circulair

dubbelstrengs molecuul van ongeveer 16.500 baseparen. Het codeert totaal voor de synthese van 13 eiwitten, waarvan respectievelijk zeven onderdeel vormen van complex I, één van complex III, drie van complex IV en twee van complex V van het mitochondriële oxydatieve fosforyleringssysteem. De overige, ruim zeventig, eiwitten van de vijf complexen van het oxydatieve fosforyleringssysteem worden door het kern-DNA gecodeerd. Aanvankelijk werd bij patiënten met een biochemisch bewezen en/of klinisch ernstige verdenking op een mitochondriële myopathie, mutatie-analyse verricht aan mitochondrieel DNA. Dit onderzoek wordt uitgevoerd op de afdeling Antropogenetica van het UMCN. Bij een, overigens beperkt, aantal patiënten werden aldus puntmutaties, deleties, depleties en duplicaties vastgesteld. Bij het merendeel van de patiënten waarbij biochemisch eenduidig een defect in de ademhalingsketen werd vastgesteld, werd echter geen mutatie in het mitochondriële DNA aangetoond. Deze constatering vormde voor onze groep de aanleiding het accent te gaan leggen op mutaties in het kern-DNA. Met name is het aan het initiatief van de tandem prof. J. Smeitink en universitair hoofddocent dr. L. van den Heuvel te danken, dat ruim vijf jaar geleden in onze groep gestart werd met mutatie-analyse van kerngecodeerde genen. Hierbij werd het accent gelegd op het grootste en meest gecompliceerde complex van de ademhalingsketen, namelijk complex I. Dit complex bevat, naast de reeds eerder genoemde zeven door mitochondrieel DNA gecodeerde eiwitten, minstens zesendertig eiwitten welke door kerngenen gecodeerd worden. Dit initiatief heeft ertoe geleid dat de eerste mutaties in eiwitten van complex I ontdekt werden. Onderzoek van patiënten met een biochemisch aangetoonde deficiëntie van complex I op de aanwezigheid van de thans bekende

mutaties in één van de kerngenen van complex I, heeft als resultaat gehad dat in ongeveer 40% van deze patiënten het primaire defect op genniveau kon worden aangetoond. Deze bevinding is van zeer groot belang bij het geven van een erfelijkheidsadvies aan ouders van een patiënt met een dergelijke mutatie. Nadat de betreffende ouders eveneens onderzocht zijn op de aanwezigheid van de betreffende mutatie kunnen zij nauwkeurig geïnformeerd worden over het herhalingsrisico bij een volgende zwangerschap. Tevens kan mutatie-analyse bij een volgende zwangerschap worden toegepast in het kader van prenatale diagnostiek. Tot voor kort was prenatale diagnostiek uitsluitend gebaseerd op bepaling van de enzymatische activiteit van het bij de index-patiënt aangetoonde deficiënte enzymcomplex. In de meeste gevallen waren wij in staat een betrouwbare uitspraak te doen over het al dan niet aangedaan zijn van de foetus. Gecombineerde biochemische en moleculair-genetische prenatale diagnostiek sluit elke twijfel in deze uit.

Gaarne wil ik nog een belangrijk probleem aan de orde stellen dat een wezenlijke rol speelt bij de biochemische diagnostiek van mitochondriële ziekten. Deze diagnostiek wordt bij voorkeur uitgevoerd via biochemisch onderzoek van een vers spierbiopt. In een vers spierbiopt zijn, in tegenstelling tot een ingevroren biopt, de mitochondriën nog intact, hetgeen ons in staat stelt in vitro het vermogen van de mitochondriën tot energieproductie op een adequate wijze te registreren. In eerste instantie wordt het energiegenererend vermogen van de mitochondriën, dit zijn de energiecentrales van de cel, gemeten door middel van de bepaling van de oxydatiesnelheden van een aantal substraten, de brandstoffen van de energiecentrale. Daarnaast wordt de energieproductie direct gemeten via de bepaling van de ATP-produc-

tie uit substraten. ATP (adenosine triphosfaat) is de belangrijkste energierijke verbinding in de cel. Uit deze metingen kan meestal eenduidig vastgesteld worden of er een stoornis aanwezig is in de zogenaamde oxydatieve fosforylering, waarmee bedoeld wordt de koppeling van de oxydatieve omzetting van substraten aan de productie van ATP, in feite dus de verbranding van de brandstoffen waarbij de benodigde energie geproduceerd wordt. Dit gehele proces vindt plaats in het mitochondrion van de cel met behulp van het oxydatieve fosforyleringssysteem dat in het zogenaamde binnenmembraan van het mitochondrion gelokaliseerd is. Indien aldus vastgesteld wordt dat er ergens in het energieproducerend systeem een stoornis aanwezig is, dient in de volgende fase van de biochemische diagnostiek nauwkeurig vastgesteld te worden in welk onderdeel van de ademhalingsketen het primaire defect gelokaliseerd is. Daartoe wordt in het spierweefsel de enzymatische activiteit gemeten van de complexen I t/m IV van de ademhalingsketen, soms aangevuld met additionele metingen. Bij het merendeel van de patiënten waarbij in de eerste fase van het onderzoek een stoornis in het energiegenererend systeem werd vastgesteld, kan aldus een exacte diagnose worden gesteld. Echter bij een aanzienlijk aantal patiënten, ongeveer 30%, waarbij evident aangetoond is dat er een stoornis aanwezig is in de oxydatieve fosforylering wordt uiteindelijk geen defect gevonden in één of meer van de complexen van de ademhalingsketen, hetgeen impliceert dat het primaire defect in een ander eiwit gelokaliseerd moet zijn, bijvoorbeeld in één van de vele transporteiwitten welke in het mitochondrion aanwezig zijn. Een defect in één van deze transporteiwitten kan direct aanleiding geven tot een stoornis in de energieproductie, aangezien het mitochondrion niet op adequate

wijze van brandstof kan worden voorzien. Wij hebben in ons centrum, het NCMD, afkorting voor Nijmegen Center for Mitochondrial Disorders, bij een beperkt aantal patiënten inderdaad een defect in één van deze transporteiwitten kunnen aantonen. Het merendeel van de patiënten waarbij geen primair defect werd aangetoond, bleef echter onopgehelderd ten aanzien van het primaire defect. Aanvankelijk stond ons niet helder voor ogen hoe we dit probleem moesten oplossen. Prof. Smeitink gaf in zijn oratie reeds aan dat inmiddels bekend is dat voor de vorming, het instandhouden en het functioneren van het mitochondrion ongeveer 2.000 à 3.000 genen noodzakelijk zijn, welke coderen voor enkele duizenden eiwitten. Als U zich realiseert dat wij momenteel met de biochemische diagnostiek slechts onderzoek doen naar eventuele mankementen in maximaal 75 van deze eiwitten, dan kunt U zich voorstellen dat bij vele patiënten nog geen exacte diagnose gesteld wordt. De recente introductie van de reeds eerder genoemde proteomicsfaciliteit maakt het mogelijk onderzoek te doen naar afwezigheid of disfunctioneren van de zojuist genoemde duizenden eiwitten. Momenteel bevindt de toepassing van proteomics in het onderzoek van mitochondriële ziekten zich nog in de researchfase. Over enkele jaren hopen wij echter dat deze techniek routinematig kan worden toegepast, waardoor wij, dat is onze stellige overtuiging, bij meer patiënten het primaire defect zullen aantonen. Dit betekent een enorme progressie met betrekking tot het geven van een adequate erfelijkheidsadvisering en maakt in meer gevallen prenatale diagnostiek mogelijk. Wij worden de laatste jaren in toenemende mate geconfronteerd met de vraag of betrouwbare prenatale diagnostiek mogelijk is. Voor bovengenoemde patiëntencategorie moeten wij de ouders van deze patiënten, welke doorgaans lijden aan

een ernstige onbehandelbare aandoening, teleurstellen. Wij hopen vurig dat de introductie van proteomics ons in staat stelt in meer gevallen adequate prenatale diagnostiek te verrichten.

De start van het onderzoek op het terrein van de mitochondriële myopathieën in het begin van de zeventiger jaren vond zijn oorsprong in de opname in onze kinderkliniek van een ernstig zieke patiënt, waarbij in bloed een duidelijke verhoging van de melkzuurconcentratie werd gevonden. Bij deze patiënt werd destijds door de promovendus, Hans Willems, vastgesteld dat het meisje leed aan een zogenaamde cytochromoxidase deficiëntie. Dat ook in dit verband gesteld kan worden dat het metabole onderzoek volop in beweging is, moge blijken uit het feit dat recent, dus bijna 30 jaren later, het defect op genniveau bij deze patiënt kon worden opgehelderd. Er blijkt een mutatie aanwezig te zijn in het surf-1 gen dat betrokken is bij de assemblage van complex IV. Deze ene patiënt heeft in onze afdeling aldus de aandacht gericht op dit fascinerende onderzoeksterrein, waarop na plusminus 3 decennia op grootschalige wijze diagnostiek en onderzoek worden verricht. De omvang hiervan moge blijken uit het feit dat momenteel verschillende klinici, biochemici, moleculair biologen, plusminus 10 promovendi, een tweetal postdocs, gemiddeld 6-7 analisten, een secretaresse en last but not least een aantal studenten op enigerlei wijze bij de diagnostiek en het wetenschappelijk onderzoek betrokken zijn.

Hyperhomocysteinemie

In ons laboratorium vindt ook sedert geruime tijd uitgebreid onderzoek plaats op het gebied van de hyperhomocysteinemie. Vanwege mijn betrokkenheid vanaf het begin wil ik kort ingaan op dit belangrijke aandachtsgebied in ons laboratorium. Voor zover ik kan nagaan, verscheen de eerste publicatie vanuit Nijmegen op het gebied van de homocystinurie in het *Netherlands Journal of Medicine* in 1980 met als auteurs Drayer, Cleophas, Trijbels, Smals en Kloppenborg. De titel van de publicatie luidde: "Symptoms of homocystinuria in seven adult patients". Op zeer bescheiden schaal werd destijds op dit terrein onderzoek verricht. Met het vertrek van de internist Drayer uit Nijmegen werd het onderzoek vanuit de kliniek voortgezet door de internist metabole ziekten dr. Frits Boers, die in 1985 cum laude promoveerde op dit ziektebeeld. In zijn proefschrift, dat voornamelijk handelde over 21 homozygote patiënten met klassieke homocystinurie, attendeerde Boers op het verhoogde risico van heterozygotie voor homocystinurie op vroegtijdige arteriosclerose. Hierbij werd het mogelijke verband gelegd tussen een relatief milde verhoging van de homocysteïneconcentratie in bloed en de kans op hart- en vaatziekten. Sedertdien nam de belangstelling voor milde hyperhomocysteinemie in relatie tot hart- en vaatziekten sterk toe. Het onderzoek had in ons laboratorium inmiddels een zodanige plaats ingenomen dat wij in 1990 speciaal voor het verder uitbouwen ervan de biochemicus dr. Henk Blom hebben aangetrokken. In nauwe samenwerking met de afdeling Gynaecologie/Obstetrie werd tevens een start gemaakt met het onderzoek naar de relatie tussen milde hyperhomocysteinemie en

neurale buisdefecten, waarbij het accent vooral gelegd werd op patiënten met spina bifida, beter bekend als het open ruggetje. Vanuit de afdeling Gynaecologie/Obstetrie waren met name prof. Eskes en dr. Steegers-Theunissen de participanten aan dit onderzoek, dat in toenemende mate tevens gericht werd op hyperhomocysteinemie in relatie tot zwangerschapscomplicaties, zoals herhaalde abortus en placentaire infarctering. Het homocysteïne-onderzoek is in ons laboratorium, in samenwerking met diverse andere afdelingen in ons ziekenhuis en daarbuiten, onder leiding van dr. Blom tot grote bloei gekomen en heeft de afgelopen jaren een stormachtige ontwikkeling doorgemaakt. Ik heb het altijd als een voorrecht beschouwd aan het homocysteïne-onderzoek op bescheiden wijze een bijdrage te mogen leveren. Het succes van het onderzoek moge voldoende blijken uit het gegeven dat vanuit Nijmegen meer dan 10 jonge wetenschappers op het homocysteïne-onderzoek zijn gepromoveerd en uit het zeer grote aantal publicaties op dit gebied. Niet zonder enige trots wil ik vermelden dat ik zelf inmiddels al 63 keer als (co-)auteur bij een publicatie op het homocysteïne-terrein mocht fungeren. Het totale aantal publicaties op dit gebied is uiteraard veel hoger.

Ik heb, zeer gewaardeerde toehoorders, wat de activiteiten in ons laboratorium betreft, in deze rede mede het accent gelegd op mitochondriële ziekten en op hyperhomocysteinemie. Ik heb deze keuze gemaakt aangezien ik mij met name met deze deelgebieden heb beziggehouden. Hieruit mag niet de conclusie getrokken worden dat ik andere aspecten van diagnostiek en onderzoek minder belangrijk vind. Integendeel. In ons laboratorium wordt tevens hooggekwalitei-

ficeerd onderzoek verricht op het gebied van de kindernefrologie, de kinderoncologie, de neurochemie en op het gebied van neurometabole en neuromusculaire ziekten.

Uit het voorgaande zou U wellicht de conclusie kunnen trekken dat ons laboratorium in eerste instantie als research laboratorium beschouwd moet worden. Dit is echter, althans in mijn visie, zeker niet het geval. Het laboratorium voor Kindergeneeskunde & Neurologie heeft als primaire taak het verrichten van geavanceerde, speciële diagnostiek op het terrein van erfelijke metabole ziekten en op het gebied van de neurochemie. Dit impliceert dat vele medewerkers in ons laboratorium dagelijks intensief bezig zijn met deze bijzondere diagnostische verrichtingen. Nadrukkelijk wil ik opmerken dat de basisdiagnostiek van metabole ziekten alsmede de integrale liquordiagnostiek van eminent belang zijn voor ons laboratorium en voor de beide moederafdelingen, kindergeneeskunde en neurologie. Aan deze primaire vorm van diagnostiek, welke onder leiding staat van dr. J. de Jong, dr. W. Ruitenbeek en dr. M. Verbeek, ontleent het laboratorium zijn bestaansrecht. Ik wil vanaf deze plaats allen die op enigerlei wijze hierbij betrokken zijn hartelijk dankzeggen voor hun inzet bij de uitvoering van deze verantwoordelijke taak. Hun werk vormt tevens de basis voor het wetenschappelijk onderzoek in ons laboratorium. Betrokkenheid bij de diagnostische activiteiten wordt, ten onrechte, vaak ondergewaardeerd, aangezien deze activiteiten in het algemeen minder "scoren" in de vorm van publicaties. Het in ons laboratorium verrichte wetenschappelijk onderzoek is doorgaans patiëntgebonden. Laten we dit uitgangspunt niet uit het oog verliezen. Het mag niet zo zijn dat het accent van het wetenschappelijk onderzoek uitsluitend

gelegd wordt op die aspecten die wetenschappelijk zo hoog mogelijk scoren. Het belang van de patiënt dient richtinggevend te zijn. Ik prijs mij bijzonder gelukkig dat ik in de 35 jaren die ik op de afdeling Kindergeneeskunde heb mogen werken, zeer intensief heb samengewerkt met klinici. Deze samenwerking heeft ertoe geleid dat het patiëntenbelang steeds meegewogen werd bij de selectie van de onderzoeksprojecten.

Ik wil nog opmerken dat ons laboratorium in 2003 de absoluut noodzakelijke accreditatie hoopt te verkrijgen. Deze accreditatie, welke borg staat voor de kwaliteit van de in ons laboratorium verrichte diagnostiek en het onderzoek, heeft onder leiding van de kwaliteitsfunctionaris Theo van Lith veel inzet van de medewerkers gevraagd bij de voorbereiding ervan. Ik wil iedereen hiervoor mijn erkentelijkheid betuigen.

Dames en heren, het is nog steeds een goede gewoonte aan een dissertatie een aantal stellingen toe te voegen. Ik maak van de gelegenheid van dit afscheidscollege gaarne gebruik ook een aantal stellingen te poneren. Het verschil met een academische promotie is, dat ik de stellingen niet in het openbaar hoef te verdedigen. Op een ander tijdstip wil ik dat echter gaarne alsnog doen. Mijn stellingen luiden als volgt:

stelling 1

Het laboratorium voor Kindergeneeskunde en Neurologie heeft het bestaansrecht dubbel en dwars bewezen en dient derhalve als zelfstandige afdeling erkend te worden met handhaving van de band met de moederafdelingen.

stelling 2

De subafdelingen van de Stichting Klinisch Genetisch Centrum Nijmegen functioneren op een zodanig hoog niveau dat handhaving van de huidige infrastructuur gewaarborgd dient te worden na opheffing als zelfstandige stichting.

stelling 3

De positie van academisch gevormde niet-medische specialisten is in academische ziekenhuizen, ten onrechte, niet gelijkwaardig aan die van medische specialisten.

stelling 4

Bijzondere hoogleraren worden elke vijf jaar kritisch beoordeeld door een College van Toezicht. Het verdient aanbeveling deze beoordeling voor alle ordinariaten in te voeren.

stelling 5

De honorering van een bijzondere hoogleraar is niet zo bijzonder.

stelling 6

In een goed functionerende organisatie dient een goede onderlinge communicatie hoge prioriteit te hebben. Beperking van communicatie per e-mail is derhalve aan te bevelen, aangezien het persoonlijk contact hierbij node gemist wordt.

stelling 7

De verplichting om bij het bereiken van de 65 jarige leeftijd met pensioen te gaan, mist elke logica.

stelling 8

Het carrière perspectief is voor medewerkers van een academisch ziekenhuis te beperkt.

stelling 9

De term n.w.p. welke gebruikt wordt als afkorting voor niet-wetenschappelijk personeel is onjuist, omdat door velen in deze personeelscategorie uitstekende wetenschappelijke prestaties worden geleverd.

stelling 10

Het aantal ordinariaten in den lande voor chemische en klinische specialisten in metabole ziekten staat in geen verhouding tot hetgeen op dit gebied in Nederland aan wetenschappelijke prestaties en aan kwaliteit van patiëntenzorg wordt geleverd.

Een woord van dank

Dames en heren, aan alles komt een einde; niet alleen aan een langdurige, fijne loopbaan, maar eveneens aan een afscheidscollege. Ik heb een deel van mijn tijd gereserveerd voor het dankwoord, omdat ik velen dank verschuldigd ben.

Allereerst wil ik gaarne de *besturen van de Katholieke Universiteit Nijmegen en van het Universitair Medisch Centrum St Radboud* dankzeggen voor het in mij gestelde vertrouwen destijds bij mijn benoeming tot bijzonder hoogleraar. Vervolgens wil ik het *Bestuur van de Stichting Nijmeegs Universiteitsfonds* dankzeggen voor de vestiging van de bijzondere leerstoel in de klinische biochemie en voor mijn benoeming op deze leerstoel. In mijn oratie in 1989 heb ik de hoop uitgesproken het door U in mij gestelde vertrouwen te kunnen waarmaken. U kunt nu, 14 jaren later, de balans opmaken. Ik ben echter niet echt bezorgd over de uitkomst ervan, gezien de diverse herbenoemingen door Uw Stichting.

Dames en heren professoren, universitaire hoofddocenten, docenten en overige leden van de wetenschappelijke staf van de Universiteit, in het bijzonder van het UMC St Radboud. In de bijna 40 jaren die ik aan deze Universiteit heb mogen werken, heb ik met velen van U op een zeer prettige wijze mogen samenwerken. Ik zal dit contact in de toekomst gaan missen. Met een gevoel van dankbaarheid zal ik aan deze samenwerking terugdenken.

Hooggeleerde Sengers, beste Rob. Op de oprichter van de Nijmeegse Kinderkliniek prof. Slooff na, heb ik onder alle hoofden van de afdeling Kindergeneeskunde mogen dienen, te weten prof. Schretlen, prof. Stoeltinga en daarna onder jou. Met jou heb ik het langst samenge-

werkt. Onderbroken door enkele jaren die jij hebt doorgebracht op de afdeling Cyto-Histologie, dateert deze samenwerking vanaf begin 1964 op de afdeling Biochemie tot heden op de afdeling Kindergeneeskunde. Als ik zelfs maar een poging zou doen onze langdurige samenwerking samen te vatten, zou ik een wezenlijk deel van mijn afscheidscollege daarvoor nodig hebben gehad. Ik kan dus slechts volstaan, beste Rob, met je oprecht te bedanken voor de fijne samenwerking, jouw vertrouwen in mij en de grote steun gedurende vele jaren. Met genoeg zal ik terugdenken aan de vele congressen die wij samen met Marguérite en Tilly bezochten en aan de fijne gezamenlijke vakanties, waarbij de borrel na vijven een onmisbare rol vervulde.

Veel steun heb ik mogen ondervinden van het *Bestuur van het Cluster Universitair Kinderziekenhuis*. Mede dankzij Uw steun kon het laboratorium de huidige status bereiken. Hartelijk dank hiervoor.

Bestuursleden van het Klinisch Genetisch Centrum Nijmegen. Vanaf de oprichting van het KGCN heb ik deel mogen uitmaken van Uw bestuur. De huidige infrastructuur van het laboratorium is grotendeels aan Uw ondersteuning in materiële en personele zin te danken. U heeft mede de basis gelegd voor de toekomst van het laboratorium. Gaarne dank ik U hiervoor en voor de uiterst prettige vergaderingen op de vijfde verdieping, welke achtereenvolgens o.l.v. drs. Ben ter Haar, mr. Maarten Kateman, drs. Ton Kessels en dr. Ben Hamel op een zeer vriendschappelijke wijze plaatsvonden.

Stafleden van de afdeling Kindergeneeskunde. In de 35 jaren die ik in de afdeling mocht werken, heb ik veel stafleden zien komen en gaan. Met hoevelen ik heb samengewerkt, zou ik bij benadering niet durven zeggen. Wat ik wel durf te zeggen is dat ik met velen op een zeer prettige manier heb mogen samenwerken. Een fijnere werkkring als op

deze afdeling kan ik mij absoluut niet voorstellen. Mijn welgemeende dank voor alles.

Stafleden en medewerkers van het Laboratorium voor Kindergeneeskunde & Neurologie. Er is bij het uitspreken van een dankwoord een bepaalde hiërarchie ontstaan in de volgorde waarmee personen of instellingen bedankt worden. Vandaar dat ik mij nu pas tot jullie richt. Gevoelsmatig had ik mij uiteraard het eerste tot jullie willen wenden. Toen ik op 1 mei 1967 als pas gepromoveerd biochemicus mijn intrede deed in dit laboratorium, dat destijds laboratorium voor Kindergeneeskunde en Chirurgie heette o.l.v. dr. P. van Munster, waren de activiteiten primair gericht op routine klinische chemie. Ik kreeg destijds van prof. Schretlen en dr. Van Munster de opdracht te starten met metabole diagnostiek. Deze bijzondere vorm van diagnostiek heeft in de daaropvolgende jaren een stormachtige ontwikkeling doorgemaakt. In 1988 vond de reorganisatie van de klinisch chemische laboratoria plaats, waarbij, na een fusie van de laboratoria voor Kindergeneeskunde/Chirurgie en Neurologie, het huidige laboratorium voor Kindergeneeskunde en Neurologie tot stand kwam, waarin het accent kwam te liggen op diagnostiek en onderzoek van erfelijke stofwisselingsziekten, op de neurochemische diagnostiek en op wetenschappelijk onderzoek op het terrein van de kideroncologie en kindernefrologie. De enorme groei van het laboratorium, waarover ik, in opdracht van prof. Stoelinga en wijlen prof. Schulte, in 1988 de leiding kreeg, tot het huidige laboratorium met plusminus 100 medewerkers, heeft ertoe geleid dat LKN het grootste diagnostische laboratorium in Nederland in zijn soort is geworden, met een fantastische output van plusminus 75 internationale publicaties per jaar en gemiddeld 4

promoties per jaar. Dit was uiteraard alleen mogelijk dankzij de enorme inzet van alle medewerkers die ik jammer genoeg niet allen bij naam kan noemen. Om dit dankwoord geen al te anoniem karakter te geven, wil ik toch een aantal namen noemen van personen waarmee ik op een heel bijzondere en intensieve wijze heb samengewerkt. Ik doel op de stafleden Ron Wevers, die mij een aantal jaren als plaatsvervangend hoofd ter zijde heeft gestaan, Henk Blom, Bert v.d. Heuvel, Jan de Jong, Wim Ruitenbeek, Marcel Verbeek en de stafleden welke reeds vertrokken zijn, te weten Jan Bakkeren, Karel Lamers en Ronney De Abreu. De samenwerking met Sandra Scherpenborg, als secretaresse en als managementassistent, met Wilmien Heijs en Richard Timmer als hoofdanalisten, met Theo van Lith als kwaliteitsfunctionaris wil ik apart vermelden. Bovengenoemden zijn of waren allen lid van de laboratoriumstafvergadering. Hartelijk dank voor jullie constructieve bijdrage aan de discussies tijdens onze bijeenkomsten, waar het beleid van het laboratorium werd bepaald. De zeer langdurige en prettige samenwerking met Tineke v.d. Casteel, met de analisten van de spiergroep (Antoon Janssen, Diana Vermunt, Liesbeth Wintjes, Anneke Stegeman, Berendien Stoltenborg en Christine Kerkhof), met Inge Konijnenberg, Frans v.d. Brandt, Jacqueline Corstiaensen en Frans Zegers heb ik altijd enorm gewaardeerd. Tevens wil ik nadrukkelijk noemen de prettige herinneringen die ik heb aan de samenwerking met talrijke analisten, secretaresses, administratieve medewerkers, dames van de monsterontvangst en van de glasverzorging, postdocs, promovendi, studenten en de vele buitenlandse medewerkers. Uiteraard betrek ik ook gaarne in dit dankwoord alle oud-medewerkers van het laboratorium. Ik hoop dat de niet met

naam genoemden zich realiseren dat ik voor iedereen graag een apart dankwoord zou willen uitspreken, hetgeen helaas niet mogelijk is. Ik heb, temidden van jullie, gedurende 35 jaren een zeer mooie tijd gehad en voel mij om die reden een zeer dankbaar mens ondanks de pijn die dit afscheid met zich meebrengt. Ik wens het laboratorium alle goeds toe voor de toekomst. Mijn opvolger krijgt een zware doch tevens dankbare taak en ik wens hem veel succes toe bij het vervullen ervan.

Ik ben nog niet helemaal klaar met het dankwoord. Bij de uitoefening van mijn taak, zowel in het diagnostische vlak als op wetenschappelijk gebied stond samenwerking met klinici voorop. Deze samenwerking heeft ertoe geleid dat ik mijn werk als klinisch chemicus in de ware zin van het woord heb kunnen verrichten. Ik wil dan ook mijn hartelijke dank uitspreken aan het adres van de vele klinici waarmee ik heb mogen samenwerken. In het bijzonder wil ik in dit verband noemen wijlen prof. Schretlen, prof. Stoelinga, prof. Monnens, prof. Smeitink, prof. Gabreëls, dr. Boers en prof. Eskes.

Vele jaren heb ik ook een beroep mogen doen op de *medewerkers van de afdeling Kindergeneeskunde* werkzaam op het secretariaat, de afdeling Beheer, de afdeling Personeelszaken enz. Ook hen wil ik oprecht bedanken voor hun spontane hulpvaardigheid. Met name wil ik hier noemen Sandra Eichelsheim, Léo Berrevoets, Betty Rikken en Aloys Klein Gunnewiek.

Bestuur en leden van de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie wil ik dankzeggen voor de fijne samenwerking onder meer tot uiting komend in de belangrijke functies welke zij mij toevertrouwden en heel in het bijzonder voor de recente toekenning van de Gorter en de Graaffprijs. Van de collegae klinisch-chemici in het UMC St Radboud

wil ik in het bijzonder mijn goede, veel te vroeg overleden, vriend dr. Jan Hafkenscheid postuum bedanken, die mijn belangstelling voor de klinische chemie gewekt heeft. De samenwerking met prof. Hans Willems wil ik gaarne apart vermelden.

Bestuur en leden van de Nederlandse Vereniging voor Erfelijke Stofwisselingsziekten (ESN) wil ik mijn erkentelijkheid betuigen voor de fijne collegiale contacten, welke uit de activiteiten van de ESN voortvloeiden. Ik was zeer aangenaam verrast dat ik 3 jaar geleden, op een leeftijd dat velen langzamerhand een stap terug moeten doen, aangezocht werd om als voorzitter van de ESN te gaan fungeren. Ik heb dit als een grote eer beschouwd.

Dames en heren studenten. Het overdragen van kennis aan studenten heb ik altijd met veel plezier gedaan. Helaas is er relatief weinig ruimte in het curriculum om dit in praktijk te brengen. Ik zal echter met voldoening terugdenken aan het contact met U.

Geachte heer Bouman. Voor de derde en tevens laatste keer in mijn carrière wees U mij de weg naar de corona. Ik wil U bijzonder bedanken voor de zeer langdurige samenwerking. Voortaan zal ons contact zich beperken tot de thuiswedstrijden van NEC.

Gaarne wil ik ook het *thuisfront* bedanken voor de steun die ik in 4 decennia mocht ondervinden en met name voor het begrip als pa weer eens geen tijd had voor gezinsactiviteiten. Tilly heeft dat het meeste aan den lijve ondervonden en in haar dank ik mijn fijne gezin voor de steun en het begrip. We hebben een zeer bewogen jaar achter de rug, maar met vertrouwen zien we de toekomst tegemoet, gesteund door allen die ons omringen.

Ik wil besluiten met een typische uitdrukking van mijn jongste kleinzoon als opa "een beetje gek doet". Deze uitdrukking luidt: "Doet opa

nou?" Dat weet opa ook nog niet precies, beste knul. In elk geval meer tijd aan jullie allen besteden en toch nog regelmatig naar het laboratorium gaan om mij nog een beetje nuttig te maken.

Ik heb gezegd.

