

Prof dr Elizabeth CM de Lange

De mastermind onderzoeksmethode: het kraken van de code



Universiteit
Leiden

Bij ons leer je de wereld kennen

De mastermind onderzoeksmethode: het kraken van de code

Oratie uitgesproken door

Prof dr Elizabeth CM de Lange

bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar

in de Voorspellende Farmacologie

aan de Universiteit Leiden

op vrijdag 22 maart 2019



Universiteit
Leiden

Mijnheer de Rector Magnificus, beste collega's, dierbare vrienden, familie, zeer gewaardeerde toehoorders,

Als ik u zou vragen of u oud zou willen worden, dan zullen velen van u zeggen: ja, maar dan wel gezond. Gezond zijn of je gezond voelen is een heel belangrijk goed, en het behoud of terugkrijgen daarvan is heel wat waard. We kunnen zeker een bijdrage leveren aan onze gezondheid door gezond te leven, en hebben daarmee in eerste instantie een grote eigen verantwoordelijkheid in het verkleinen van onze kans om ziek te worden. Maar er is geen garantie. Iedereen kan ziek worden. Een deel van die ziekten kunnen vanzelf overgaan. Een ander deel zal behandeld moeten worden met medicijnen, voor korte duur als de ziekte echt opgelost kan worden, of voortdurend om in elk geval de symptomen van de ziekte te onderdrukken.

Een belangrijke categorie van aandoeningen zijn de hersenaandoeningen. Voorbeelden van hersenaandoeningen zijn epilepsie, depressie, angststoornissen, trauma, beroerte, hersentumoren, de ziekte van Parkinson en de ziekte van Alzheimer. Ik hoop u denk ik niet te vertellen dat de gevolgen van hersenaandoeningen groot kunnen zijn. Bij menig hersenaandoening verandert het functioneren van de hersenen en daarmee de vaardigheden van een persoon. In bepaalde gevallen kan dit leiden tot veranderingen in gevoel, in gedrag, in geheugen, en zelfs in persoonlijkheid of karakter. Dat heeft dus een grote impact, niet alleen op de persoon met de hersenaandoening zelf, maar ook op de naasten en op de sociale omgeving. Helaas kunnen de meeste hersenaandoeningen niet adequaat behandeld worden. Er valt dus nog veel te doen.

De hersenen hebben mij altijd gefascineerd. Dit intrigerende orgaan bestuurt al onze functies. Het maakt ons ook zoals we zijn. Het bepaalt onze persoonlijkheid. Zowel het ontzag voor de normale werking van hersenen als de veelal ontluisterende consequenties van vele hersenaandoeningen brachten mij ertoe om toegewijd hersenonderzoek te doen met als doel hersentherapieën te helpen verbeteren.

In deze oratie zal ik mij voornamelijk richten op het onderzoek aan medicijnen voor de hersenen. Ik zal u proberen te overtuigen van de noodzaak om in het onderzoek en in de ontwikkeling van hersenmedicijnen veel meer aandacht te geven aan de tijdsafhankelijkheid en de onderlinge afhankelijkheid van de vele processen die de werking van medicijnen bepalen, en hierin ook de ziekteprocessen mee te nemen.

De hoofdrolspelers in de werking van een medicijn voor de hersenen

Na het toedienen van een medicijn moet een medicijn op zijn werkplek kunnen komen, om daar vervolgens aan te slag te gaan en een invloed te hebben op lichaamsprocessen, die uiteindelijk met elkaar het effect van het medicijn bepalen.

U weet allemaal dat als u een kleurstofdruppel in een glas water brengt, dat na verloop van tijd het hele water gekleurd zal zijn doordat de kleurstof zich gelijkmatig over het water heeft verdeeld. Dat wordt diffusie genoemd. Diffusie is een spontaan proces, en kost dus geen energie, en de drijvende kracht voor diffusie is altijd het concentratieverschil. Zo zullen ook medicijnen diffunderen in vloeistoffen maar ook door vette membranen van cellen, als tenminste het medicijn zelf voldoende vetachtig is. Verder zijn er vele lichaamscomponenten waar medicijnen aan kunnen binden. Zo kunnen medicijnen in het bloed gebonden worden aan grote bloedeiwitten.

Terwijl in het lichaam een medicijn relatief vrij is om te diffunderen tussen bloed en vele weefsels, is dit niet het geval voor hersenweefsel. Hersenweefsel wordt van het bloed gescheiden door de bloed-hersenbarrière (BBB). Deze BBB wordt gevormd door de cellen van de wand van de kleine hersenbloedvaten oftewel de hersencapillairen. De BBB heeft zeer gespecialiseerde eigenschappen. De cellen worden dicht tegen elkaar aan gehouden door een soort klittebandjes tussen de cellen. Deze klittebandjes worden de "tight junctions" genoemd. Deze maken dat de ruimte tussen de cellen erg klein is. Medicijnen kunnen op twee manieren spontaan de BBB passeren. De eerste is dwars door de cellen heen. Daarvoor moet een medicijn wel voldoende

de vetachtig zijn en ook niet zo groot zijn. Voor die medicijnen die niet vetachtig genoeg is de enige optie om tussen de cellen door naar de hersenen te komen. Omdat die ruimte door de tight junctions zo klein zijn kunnen dus alleen de heel kleine medicijnen op deze manier de hersenen binnenkomen. Medicijnen die aan bloedeiwitten gebonden zijn kunnen de BBB dus niet passeren. Samenvattend zijn het dus alleen ongebonden kleine medicijnen die de BBB spontaan kunnen passeren. Dat kan dwars door de cellen heen of door die kleine ruimtes tussen de cellen. Het belang te weten wat die ongebonden medicijnconcentraties zijn, moeten we even vasthouden.

Naast spontaan transport over de BBB kunnen medicijnen door active transportsystemen over de BBB getransporteerd worden. Dat kost energie. Deze actieve transporters zorgen er normaalgesproken voor dat de hersenen hun voedingsstoffen en brandstof krijgen, en ook dat afvalstoffen worden verwijderd en mogelijk schadelijke stoffen vanuit het bloed geweerd worden. Vele van deze active influx en efflux transporters kunnen ook medicijnen transporteren. Daarmee kunnen ze dus een grote invloed uitoefenen op het BBB transport van deze medicijnen. Onthoudt dat ook voor de interactie met een actieve transporter geldt dat het medicijn ongebonden moet zijn.

Eenmaal in de hersenen aangekomen wordt de reis van een medicijn verder bepaald door de eigenschappen van de hersenen. De hersenen hebben verschillende weefselstructuren, en de hersencellen worden omringd door de extracellulaire hersenvloeistof. De extracellulaire hersenvloeistof wordt door de BBB geproduceerd en stroomt in de richting van de vloeistofholtes van de hersenen. Deze vloeistofholtes bevatten de cerebrospinaalvloeistof die wordt geproduceerd door speciale cellen in deze vloeistofholtes. Zo hebben we dus de productie van hersenvloeistoffen die normaalgesproken in balans is met de verwijdering. Deze verwijdering vindt plaats via sluisjes in speciale bloedvaten van de hersenen. De combinatie van diffusie van medicijnen in de hersenvloeistof en hun transport via de vloeistofstromen, alsook hun diffusie en mogelijke actieve

uitwisseling tussen de vloeistof rondom de hersencellen en in de hersencellen zelf, zullen de verdeling van het medicijn in de hersenen bepalen. Verder kan een medicijn in de hersenen ook worden gebonden aan hersencomponenten. Wanneer een medicijn aan hersencomponenten gebonden is is het dus niet beschikbaar voor binding aan de werkplek: het zijn opnieuw de ongebonden medicijnconcentraties die van belang zijn voor de werking van het medicijn.

We hebben dus kennis nodig over de ongebonden medicijnconcentraties in het bloed, de snelheid en mate van BBB-transport van het medicijn, de vloeistofstromen in de hersenen, de binding van het medicijn aan hersenweefsel componenten, en de uitwisseling van de medicijn tussen de vloeistof rondom en de vloeistof in hersencellen, om te kunnen begrijpen wat op een bepaald tijdstip de ongebonden medicijnconcentratie op een bepaalde plaats in de hersenen zal zijn, inclusief die op de werkplek. Daarmee kan het ongebonden medicijn vervolgens een interactie aangaan om een invloed te hebben op lichaamsprocessen, die uiteindelijk met elkaar het effect van het medicijn bepalen.

U bent mogelijk de tel al kwijt, maar het belangrijkste om nu te onthouden is dat informatie over het tijdsverloop van de ongebonden medicijnconcentraties belangrijk zijn om de werking in de hersenen te begrijpen, en dat deze ongebonden medicijnconcentraties worden bepaald door vele processen die tegelijkertijd plaatsvinden en onderling afhankelijk zijn. Daar moeten we dus iets mee.

Het belang van de juiste metingen – meten is weten

Na mijn studie Biofysische chemie in Groningen voerde ik mijn promotieonderzoek hier in Leiden uit, onder begeleiding van Prof Meindert Danhof, Prof Douwe Breimer, en Dr Bert de Boer. Mijn doel was te onderzoeken of de microdialyse techniek gebruikt zou kunnen worden voor het meten van medicijntransport over de BBB. Ik heb deze techniek in Leiden geïntroduceerd.

De microdialyse techniek maakt gebruik van een heel klein buisje met aan het uiteinde een stukje membraan. In dat membraan zitten kleine gaatjes zodat er alleen kleine stoffen doorheen kunnen. Dit buisje kan met microchirurgie op een gekozen locatie in de hersenen ingebracht worden. Dit buisje wordt vervolgens gekoppeld aan twee slangetjes. Via ene slangetje kunnen we een vloeistofstroom door dit buisje laten lopen, welke er via het andere slangetjes weer uitkomt. Omdat aan het uiteinde van het buisje dus dat membraan met die kleine gaatjes zit, kunnen kleine stoffen vanuit de omgeving het buisje binnenkomen. Dus ook kleine ongebonden medicijnen. Die medicijnen gaan vervolgens mee met de vloeistofstroom die het buisje weer uitkomt. De vloeistofstroom kan vervolgens in fracties worden opgevangen. En de concentratie van een medicijn kan vervolgens in al die fracties worden bepaald. Op deze manier hebben we informatie over het tijdsverloop van de ongebonden medicijnconcentratie op een bepaalde plaats in de hersenen [1]

Deze techniek vereist een combinatie van zeer verfijnde microchirurgische handelingen. Dit voor het inbrengen van dat kleine microdialyse buisje in de hersenen van kleine proefdieren. Ook moeten er kleine canules in de bloedvaten worden aangelegd. Via de ene canule kunnen we tijdens het experiment een medicijn toedienen, en via de andere canule kunnen we tijdens het experiment bloedmonsters afnemen. Maar eerst moet het proefdier een herstelperiode hebben. Tijdens het experiment kan het proefdier gewoon vrij bewegen, eten, drinken, en slapen. Intussen kan via de canules een medicijn worden toegediend en kunnen er bloedmonsters worden afgenomen. Ook wordt de microdialyse vloeistof in fracties verzameld. Daarin kunnen de ongebonden medicijnconcentraties in het bloed en in hersenmicrodialysaat bepaald worden, waarmee het werkelijke BBB transport van het medicijn berekend kan worden, voor een en hetzelfde proefdier. Dit maakt dat je voor een bepaald onderzoek veel minder proefdieren nodig hebt.

Zoals gezegd was het doel van mijn promotieonderzoek te onderzoeken of de microdialysetechniek gebruikt zou kunnen

worden voor het meten van BBB transport van medicijnen. Het zou immers mogelijk zijn dat er door het inbrengen van een dergelijk microdialyse buisje weefselschade zou optreden waardoor de BBB niet meer normaal zou werken. Diverse onderzoeken werden daartoe uitgevoerd voor een aantal testmedicijnen en de microdialyse techniek kwam die testen glansrijk door [2]

In mijn postdoc periode ging ik verder onderzoeken of ook het meten van actief BBB transport met microdialyse mogelijk was. Hiervoor hadden we een samenwerking met Dr Alfred Schinkel, Dr Jan Wijnholds en professor Piet Borst; de toponderzoekers van het Nederlands Kanker Instituut. Zij hadden genetische gemodificeerde proefdieren waarmee onderzoek aan actieve BBB transporters uitgevoerd konden worden. Ook actief BBB transport bleek prima bepaald te kunnen worden met de microdialyse techniek. [3]

Het gebruik van de microdialysetechniek was in die tijd enorm. Maar dat was toen alleen voor het meten van neurotransmitterconcentraties. Neurotransmitters zijn lichaamseigen stoffen die voor de signaaloverdracht tussen cellen kunnen zorgen. Zo bepalen ze ook de activiteit van de verschillende hersengebieden. Deze neurotransmitterconcentraties kunnen beïnvloed worden door medicijnen. Vele onderzoeken maten neurotransmitters voor en na het toedienen van een medicijn. Dat was natuurlijk erg interessant, maar er was geen onderzoeker die zich druk maakte over de relatie tussen medicijnconcentraties in de hersenen en de veranderingen in neurotransmitterconcentraties.

Het kwantitatief meten van medicijnconcentraties in de hersenen met de microdialyse-techniek was revolutionair, maar toch was het gebruik ervan niet groot. Velen vonden het te complex. Voor het meten van neurotransmitters had je je de immers altijd eenzelfde analyse nodig, en kon je die neurotransmitterconcentraties in verschillende situaties meten. Voor het kwantitatief meten van medicijnconcentraties in de hersenen, moest je voor elk medicijn een nieuwe analyse ontwikkelen om daar-

mee de concentraties in bloed maar ook die lage concentraties in microdialysaten te meten. Vervolgens moest je ook nog voor elk medicijn de relatie bepalen tussen de medicijnconcentraties in de microdialysaten en die rondom het uiteinde van het microdialyse buisje, de zgn. *in vivo recovery* [4]. Daarvan laat ik de details maar even voor wat ze zijn. Vele onderzoekers gaven er daarom de voorkeur aan niet zo ingewikkeld te doen. Daarnaast waren er ook vele onderzoekers die de waarde van de microdialysetechniek - in eerste instantie wellicht - niet goed konden inschatten.

Met Prof Margereta Hammarlund-Udenaes van de Universiteit van Uppsala in Zweden heb ik vele discussies over BBB transport van geneesmiddelen gehad. Mijn microdialyse resultaten gaven nieuwe inzichten in de mechanismen van BBB transport, en oude paradigma's konden over boord gegooid worden. Zo werd er eerder bijvoorbeeld geen expliciet onderscheid gemaakt tussen de snelheid en mate van BBB transport, waardoor onderzoekers elkaar niet goed begrepen. Het maken van een expliciet onderscheid tussen snelheid en mate van BBB transport was dus een belangrijke stap vooruit: over appels te praten wanneer er appels werden bedoeld en over peren praten wanneer peren werden bedoeld [5]

De betekenis van de snelheid van BBB transport hoef ik wellicht niet uit te leggen. Zo kunt u zich wel voorstellen dat we tegen een migraine aanval een medicijn willen hebben dat snel werkt, dus snel in de hersenen kan komen. Daarentegen is voor het bestrijden van een chronische hersenaandoening, zoals schizofrenie, die snelheid veel minder relevant. De mate van BBB transport is mogelijk een onbekend begrip. Het is de verhouding tussen de ongebonden medicijnconcentraties in de hersenen en die in het bloed. Als het ene medicijn wel en het andere medicijn niet actief uit de hersenen gepompt wordt zal dus de mate van BBB transport lager zijn voor het ene medicijn. En dat is dan weer belangrijk omdat het er voor elk medicijn natuurlijk wel op aankomt de juiste hersenconcentraties te bereiken.

Op het "Monitoring Molecules in Neuroscience" congres in Tenerife stonden Margareta en ik, lang geleden, met een paar soortgenoten, met onze posters in een hoek. Op onze posters stonden de resultaten van BBB transport van medicijnen, gemeten met microdialyse. Er was eigenlijk geen aandacht voor. Dat was het moment waarop we besloten dat dit anders moest. Zo zijn we begonnen met het organiseren van de internationale symposia over "kwantitatieve microdialyse in medicijnonderzoek en ontwikkeling". We hebben daarmee een community van kwantitatieve microdialyse wetenschappers gevormd die nog steeds actief is. Volgend jaar, in Juni 2020, zal alweer het 9^e Symposium plaatsvinden, in Berlijn.

Daarnaast zijn Margareta en ik begonnen met de "Annual Course on the Blood-Brain Barrier in Drug Development. Principles, Transport Kinetics, Diseases and Methods". Deze cursus staat bol van belangrijke nieuwe inzichten en wordt zonder uitzondering extreem hoog gewaardeerd. Dit jaar hebben we ons jubileum met de 10^e cursus die in October in Uppsala zal plaatsvinden.

Samengevat was het revolutionaire van de microdialyse techniek dat het informatie kan verschaffen over het tijdverloop van ongebonden medicijnconcentraties. Alleen met deze informatie, in combinatie met de ongebonden medicijnconcentraties in het bloed, kan het werkelijke BBB transport van een medicijn bepaald worden. Dit zowel voor wat betreft de snelheid als wat betreft de mate van BBB transport. Daarmee kwamen we een grote stap vooruit en kon er veel mechanistisch inzicht verkregen in de processen die het BBB transport bepalen. Maar ook konden de processen die vervolgens de verdeling van het medicijn binnen de hersenen zelf bepalen verder in kaart worden gebracht.

Toegegeven, voor het kwantitatief meten van medicijnconcentraties in de hersenen moet je wel heel wat doen. Maar dan heb je ook wat! Dat zal ik u later verder duidelijk maken.

Overvulde behoefte aan betere hersenmedicijnen

Zoals eerder gezegd kunnen de meeste hersenaandoeningen momenteel niet adequaat behandeld worden. Dan hebben we verder nog te maken met een groeiend aantal mensen met neurodegeneratieve hersenziekten. Laten we dementie, volkziekte nr 1, als voorbeeld nemen. Op dit moment zijn er in Nederland ruim een kwart miljoen mensen met dementie. Dit aantal zal de komende jaren sterk toenemen door het toenemend aantal ouderen, ondanks het feit dat we meer weten over hoe deze ziekten te helpen voorkomen door een gezonde levensstijl. Daarom is de behoefte aan betere medicijnen voor hersenaandoeningen enorm groot.

Problemen in de ontwikkeling van hersenmedicijnen

De ontwikkeling van medicijnen voor de hersenen is echter een van de meest uitdagende taken voor de farmaceutische industrie. Om medicijnen voor hersenaandoeningen te ontwikkelen moet je

1. weten wat er anders is/ veranderd is in de hersenen van een patient met de hersenaandoening- dus inzicht in de ziekte
2. moet je een werkplaats hebben waar medicijnen de hersenprocessen dusdanig kunnen beïnvloeden dat deze hersenprocesses weer normaler worden.
3. moet je het medicijn maken wat op die werkplek voor die beïnvloeding kan zorgen, en
4. moet dit medicijn op het juiste moment, op de juiste locatie in de hersenen, de juiste concentratie hebben om de juiste invloed te hebben.

Dit betekent dat er voor de ontwikkeling van goede medicijnen voor hersenaandoeningen voldoende kennis en begrip moet zijn op al deze vier punten. Daarnaast, en dat is cruciaal, moeten we ook begrijpen wat de tijdsafhandelbaarheid, en de onderlinge afhankelijkheden van al deze factoren zijn [6].

We kunnen *ongerust* stellen dat de ontwikkeling van hersenmedicijnen problematisch is. Om tot een oplossing van dat probleem te komen moeten we eerst in kaart brengen wat de knelpunten zijn geweest en veelal nog steeds zijn. Pas daarna kunnen we komen tot verbetering.

Waarom gaat het zo vaak mis?

Allereerst hebben we onvoldoende inzicht in de processen die een rol spelen in ontstaan van vele hersenaandoeningen en hun verdere ontwikkeling. In vele hersenaandoeningen spelen genetische, fysiologische, neurochemische, neurodegeneratieve en ontstekingsprocessen vaak tegelijkertijd een rol. Ook kan de bijdrage van deze ziektecomponenten kan tussen patienten sterk verschillen.

Daarnaast kan de diagnose van bijvoorbeeld de ziekte van Parkinson en de ziekte van Alzheimer pas in een relatief laat stadium van de ziekte gesteld worden. Vaak is er al zoveel in de hersenen veranderd dat de kans op genezing van de ziekte vrijwel nul is. Op zijn best kan de verdere ontwikkeling van de ziekte vertraagd worden, of kunnen alleen nog symptomen van de ziekte worden onderdrukt.

Wat moeten we eigenlijk aanpakken? Als we al een proces hebben gevonden dat in een hersenziekte ontspoorde is, is de volgende vraag hoe deze ontsporing tegen te gaan of teniet te doen. Waarop moeten we ingrijpen? En ook, wanneer er zoveel processen tegelijkertijd een rol spelen, hoe groot is dan de kans dat we succesvol zullen zijn door slechts 1 proces aan te pakken?

Hoe weten we verder of het medicijn op de juiste plaats, op het juiste moment, en ook met de juiste concentratie terecht komt? Komt het medicijn er te weinig, teveel, of precies genoeg? Komt het medicijn er te langzaam, te snel of precies op tijd? Daarvoor hebben zoals eerder gezegd inzicht nodig over de relatie tussen de ongebonden concentraties van de medicijn in het bloed, de snelheid en mate van BBB-transport van het medicijn, de vloeistofstromen in de hersenen, de binding van de medicijn aan hersenweefsel-componenten, en de uitwisseling van de medicijn tussen de vloeistof rondom en de vloeistof in de hersencellen. Aan de impact van al deze factoren, en hun onderlinge relaties, wordt in de farmaceutische industrie werd bij het testen van hersenmedicijnen eigenlijk veel te weinig aandacht besteed.

En wat is dan vervolgens de interactie van het medicijn met werkplek? Deze interactie wordt veelal alleen in een celsysteem bepaald, of in proefdieren met een PET scan, terwijl het uiteindelijk afhangt van vele lichaamsprocessen die in mensen en zeker in patienten heel anders kunnen zijn dan in het celsysteem of proefdier.

Een volgend probleem is dat we geen metingen in de hersenen van mensen mogen doen met zij het minimale invasieve technieken. Zo mogen er geen microdialyse probes in de hersenen van mensen worden geïmplanteerd en kunnen die cruciale ongebonden medicijnconcentraties dus niet gemeten worden.

Als ik u nu als interactief intermezzo zou vragen wie van u, als gezond proefpersoon, een minuscule kleine microdialyse probe in de hersenen geïmplanteerd zou mogen worden, denk ik dat het oorverdovend stil zou blijven. Dat zegt alles.

8

In slechts enkele gevallen is het overigens in het verleden wel toegestaan medicijnconcentraties in de hersenen van patienten te meten met een microdialyse buisje, zoals bijvoorbeeld bij een hersenoperatie voor het verwijderen van een epileptisch hersenweefsel of bij traumatische hersenschade, waarin de microdialyse techniek wordt gebruikt om de lactaat-pyruvaat concentraties en hun ratio te bepalen. Dit geeft informatie over de toestand van de patient voordat dat op basis van klinische tests gezien kan worden. Echter, tegenwoordig is het in veel landen verboden om de microdialysemonsters te gebruiken voor het meten van medicijnconcentraties omdat het niet in direct belang van de patient zou zijn. Ik vraag me dan af hoe we hier ooit verder mee kunnen komen.

Nu hoor ik enkelen van u denken: we kunnen toch met MRI en met PET scans het een en ander in de hersenen van mensen meten. Daar heeft u gelijk in. Met MRI en PET kunnen we een aantal fysiologische processen zichtbaar maken, en met PET kan eveneens de mate van binding van een gelabeld medicijn aan zijn werkplek bepaald worden [7]. Maar met deze informa-

tie kunnen we niet de onderlinge relaties en tijdsafhankelijkheid van processen te bepalen.

En dan hebben we naar mijn mening het grootste probleem: gedurende vele jaren hebben onderzoekers in de farmaceutische industrie en ook in de academische instellingen de complexiteit van het transport van medicijnen over de BBB en in de hersenen zelf over het hoofd gezien/ genegeerd. Vele metingen zijn uitgevoerd onder onderling niet vergelijkbare omstandigheden, en vaak ook zonder tijdsafhankelijkheid in beschouwing te nemen, of de onderlinge samenhang van de processen te meten. Er werd eigenlijk veel meer aandacht gegeven aan de snelheid van metingen, dan aan de kwaliteit daarvan in dit verband. De zgn high-throughput screening in de farmaceutische industrie zou de verlossing brengen, werd gedacht. En voor onderzoekers is er de druk om snel te publiceren.

Als we nu eens kijken naar de inspanningen voor het ontwikkelen van medicijnen voor de behandeling van de Ziekte van Alzheimer, dan kunnen we zien dat die tot nog toe hebben geleid tot grote teleurstellingen, ondanks de grote financiële investeringen. Een aantal farmaceutische industrieën heeft daarom ook de stekker uit het medicijnontwikkeling voor de ziekte van Alzheimer getrokken. Dat spreekt toch boekdelen.

Wat zijn belangrijke stappen naar een oplossing?

We hebben dus te maken met een complex probleem als we een goed medicijn tegen een hersenziekte willen ontwikkelen. Mij lijkt de enige manier om verder te kunnen komen, de metingen zo uit te voeren dat daarmee de onderlinge samenhang en tijdsafhankelijkheid van de processen bepaald kan worden, die uiteindelijk de medicijnconcentraties op de werkplaats en de interactie daarmee bepalen, alsook de invloed van de ziekte op deze relaties in verschillende stadia van de hersenziekte [8].

Toegegeven, het onderzoek naar onderlinge samenhang en tijdsafhankelijkheid van vele processen in verschillende om-

standigheden is veel complexer en langduriger dan het onderzoek naar een bepaald proces an sich. Maar de uiteindelijke winst is in het eerste geval vele malen groter. Dat is daarom ook de route die ik heb gekozen en zal blijven kiezen.

Als eerste stap moeten we het complexe probleem opdelen in deelproblemen om inzicht krijgen in elk deelprobleem. Volgens moeten we die inzichten samenvoegen om begrip te krijgen van het geheel. Daarvoor is een zeer gestructureerde en uitgebreide onderzoeks aanpak nodig, en ook een lange adem. Het moge duidelijk zijn dat dat is waar ik voor sta.

En daarmee komen we dan eindelijk bij de titel van mijn oratie: “De mastermind onderzoeksmethode voor het kraken van de code”. Wat bedoel ik daarmee? Ik doel daarmee op het gezelschap spel Mastermind. Dit spel is bij vele Nederlanders bekend. Voor degenen die het niet kennen een korte uitleg. Het is een spel tussen een codemaker en een codekraker. De codemaker maakt een geheime code- en kiest daarvoor 5 van de 10 beschikbare kleuren en zet deze in een bepaalde volgorde. De codekraker moet de code in een aantal stappen kunnen kraken. De codekraker begint daarvoor met een willekeurige set van kleuren in een willekeurige volgorde, een volledige gok dus. De codemaker geeft met witte en zwarte pinnetjes feedback over het aantal goede kleuren, en het aantal goede kleuren op de goede positie. Dit uiteraard zonder te vertellen welke dat zijn. In dit spel is het dus van groot belang dat de codekraker op een logische manier de feedback van de codemaker analyseert om een volgende strategische keuze van een nieuwe combinatie van kleuren te laten testen. Het moge duidelijk zijn dat het gebruik van slechts een kleur niet gaat leiden tot het kraken van de code.

Ik gebruik dit spel als allegorie voor de manier waarop ik vind dat onderzoek moet worden uitgevoerd. De natuur heeft de codes, en wij, als onderzoekers moeten de codes zien te kraken. Omdat processen in het lichaam tijds- en onderling afhankelijk zijn, moeten ze dus uiteindelijk niet afzonderlijk, maar zoveel als mogelijk in samenhang moeten worden bestudeerd [9].

De codes van de natuur zijn uiteraard veel complexer dan die van het Mastermind spel. Als onderzoekers moeten we daarom gebruik maken van geavanceerde wiskundige modellen, die we natuurlijk zelf ontwerpen maar waarmee de computer berekeningen kan doen die we zelf niet of zeker niet zo snel zouden kunnen maken. Het uiteindelijke doel van zo'n wiskundig model is dat de uitkomst van berekeningen overeen moeten komen met de data die we uit onderzoek hebben verkregen. Als dat zo is hebben we als het ware de code gekraakt. Met deze aanpak is ook het aantal benodigde proefdieren sterk verminderd.

Een voorbeeld van de mastermind onderzoeksmethode

Graag wil ik u hier proberen uit te leggen hoe we ons meest ingewikkelde en daarmee het bestemodel tot nu toe hebben ontwikkeld voor het voorspellen van ongebonden en gebonden medicijnconcentraties op verschillende locaties in de hersenen dieren [10] en mensen [11].

Daarvoor neem ik u eerst mee naar het soort van wiskundig modellen die u waarschijnlijk allemaal gebruikt. de navigatiesystemen. Navigatiesystemen kunnen berekenen hoe snel en via welke routes u op de plaats van uw bestemming kan komen. U kunt ingeven hoe u reist, en het systeem weet welke wegen en transportroutes er zijn, met welke snelheden u deze kunt gebruiken, en, afhankelijk van het tijdstip, in welke mate de reis wat trager kan verlopen door het reizen van de medemens, of wordt beïnvloed door een wegoptbreking of noem maar op.

Stel, u en uw teamgenoten moeten een wedstrijd spelen in de sporthal in Leiden. De wedstrijd begint op een bepaald tijdstip en U en ook uw teamgenoten moeten daar op tijd aankomen, want de wedstrijd kan alleen gespeeld worden als er voldoende spelers zijn. Zo hebben we dus een juiste locatie, juiste tijd, juiste concentratie setting: de juiste locatie is de sporthal, de juiste tijd is aanvang van de wedstrijd, en de juiste concentratie is een voldoende aantal teamgenoten waarmee de wedstrijd

gespeeld kan worden. Het navigatiesysteem kan voorspellen hoe snel u en uw teamgenoten op de werkplaats, de sporthal, zullen aankomen.

Als nu een volgende wedstrijd in de sporthal in Den Haag gespeeld moet worden, bent u als team dezelfde gebleven, maar is de stad anders. En ook al hebben steden heel veel overeenkomsten, zoals in het hebben van wegen, kanalen, bruggen, spoor, gebouwen, etc), het transport is niet hetzelfde omdat de plattegronden van de steden anders zijn. Een navigatiesysteem heeft daarom uitgebreide informatie verzameld over de plattegrond van de steden, de gemiddelde drukte op verschillende locaties in de stad op verschillende tijdstippen, om op basis waarvan een goede reisvoorspelling te kunnen maken.

Eigenlijk hebben we hetzelfde gedaan voor de hersenen en het medicijn. Wij hebben een soort navigatiesysteem ontwikkeld voor het voorspellen van de snelheid en mate waarmee medicijnen op verschillende locaties in de hersenen terecht zullen komen. We hebben daarvoor als plattegrond van de hersenen informatie gebruikt van de afmetingen van het hersenweefsel, de eigenschappen van de BBB, het uitwisselingsoppervlak van de BBB, de volumes van de hersenvloeistofholtes, en de productie en verwijdering van hersenvloeistof. Dit soort gegevens zijn beschikbaar in de literatuur, en we moesten het op de juiste manier met elkaar verbinden om er de juiste hersenplattegrond voor het proefdier van te maken.

Verder hebben we uitgebreide metingen gedaan naar de tijdsafhankelijke ongebonden medicijnconcentraties in bloed en in verschillende locaties van de hersenen in proefdieren, om op die manier alles in een wiskundig model voor het proefdier samen te brengen. Zo hebben we dus het hersenmedicijnnavigatiesysteem voor het proefdier ontwikkeld. Hierin heeft de microdialyse techniek een cruciale rol gespeeld [12]. Vervolgens hebben we de plattegrond van de hersenen van het proefdier vervangen door dat van de mens. En daarmee hebben we dus ook het hersenmedicijnnavigatie-systeem voor de mens [11].

Dit heeft al met al zo'n 12 jaar gekost, en hiervoor is het promotieonderzoek van de PhD studenten Joost Westerhout en Yumi Yamamoto van groot belang geweest. Maar nu hebben we ook wat.

Met dit wiskundig model kunnen we nu voorspellen of een bepaald medicijn de gewenste hersenconcentraties zal bereiken als we de eigenschappen van die stof in het wiskundig model invoeren. Deze eigenschappen kunnen we in celsystemen bepalen of met computermodellen berekenen. Daarvoor hebben we dus geen proefdieren meer nodig. Dit is dus ook zeer bruikbaar voor de farmaceutische industrie.

We hebben de basis voor het verder ontwikkelen van dit model al klaarstaan. Allereerst door het verder uitbreiden door er ook de interactie van medicijnen op hun werkplek in op te nemen. De inzichten hiervoor komen uit het recente promotieonderzoek van Wilbert de Witte, waarmee we onder meer recentelijk in Nature Drug Discovery Reviews hebben gepubliceerd [13]. Zo kan een lange duur van de interactie tussen een medicijn en de werkplek, oftewel een lange verblijftijd, wat gemeten is in een celsysteem, niet deze lange verblijftijd van het medicijn op de werkplek in het echte lichaam garanderen, omdat er in het lichaam ook de invloed is van andere lichaamsprocessen. Andersom kan een hoge medicijnconcentratie op de werkplek in het lichaam ervoor zorgen dat de interactie met de werkplek voor een lange tijd kan blijven bestaan. Kortom, juist het begrijpen van de *samenhang* van alle lichaamsprocessen die de uiteindelijke verblijftijd van een medicijn op de werkplek bepalen is zo belangrijk. Dit is dus een enorme stap vooruit in het verder kunnen voorspellen van de werking van medicijnen op het lichaam. De inzichten die Wilbert de Witte heeft ontwikkeld beperken zich overigens niet tot de werking op de hersenen, maar zijn toepasbaar op de werking van medicijnen in het algemeen [14].

Daarnaast hebben we door het recente promotieonderzoek van Willem van der Brink verdere pionierstappen gemaakt in het

beter begrijpen van medicijneffecten, ook de mogelijke effecten die niet waren voorzien. Medicijnen zijn namelijk altijd ontwikkeld met het oog op een bepaalde werkplek, of misschien een aantal werkplekken. Maar medicijnen blijken regelmatig ook op andere werkplekken actief te kunnen zijn die niet waren voorzien. Deze verrassingen willen we natuurlijk niet pas ontdekken als het medicijn in mensen getest gaan worden, maar voor die tijd [15].

Door in bloed en in microdialyse monsters van proefdieren niet alleen het medicijn te meten maar ook zoveel mogelijke lichaamseigen stoffen met behulp van de metabole analytische platformen van Prof Thomas Hankemeier, kan de relatie tussen de medicijnconcentratie op verschillende plaatsen in het lichaam en de effecten op de concentratie van lichaamseigen stoffen gebruikt worden om af te leiden welke werkplekken, anders dan the “usual suspects”, betrokken zijn.

Ons onderzoek vandaag en morgen

Met mijn huidige team van de PhD studenten Esmee Vendel, Anthony Gebhart, Tian Qin, Mohammed Saleh, en de post-docs Yeon-Jung Seo, Luc Bisschoff en Frederique Kok gaan we verder in de strijd voor betere therapieën voor hersenziekten maar ook voor andere ziekten.

In samenwerking met Vivi Rotschafer van het Mathematisch Instituut van onze faculteit, doet Esmee Vendel haar promotieonderzoek naar een 3-dimensionaal hersenmodel. We proberen hier de hersenen echt na te bouwen in een wiskundig model. We zijn daarvoor begonnen met het wiskundig definiëren van het kleinst mogelijk hersenblokje, wat de belangrijkste eigenschappen van hersenweefsel heeft. Deze blokjes kunnen we uiteindelijk als legosteentjes met elkaar verbinden om zo de hersenen in lengte, hoogte en breedte na te bootsen. Het mooie van deze benadering is dat we in elk blokje de eigenschappen kunnen ingeven. Op deze manier kunnen we de 3-dimensionale samenhang van medicijntransport en werkplekbinding in een nog realistischere setting onderzoeken. Dit is belangrijk

voor voor hersenziekten die een impact op een bepaald gebied van de hersenen, zoals bijvoorbeeld hersentumoren en hersentrauma's.

In samenwerking met Dr Jeroen Elaiassais-Schaap doet Mohammed Saleh zijn promotieonderzoek in eerste instantie naar het verder verbeteren van het eerder genoemde hersenmedicijnnavigatie-systeem, om het vervolgens verder te kunnen aanpassen naar verschillende hersenziektes waaronder de ziekte van Alzheimer. In deze ziekten is de “plattegrond” van de hersenen veranderd en dat zal gevolgen kunnen hebben voor de medicijnconcentraties in de verschillende gebieden van de hersenen, en daarmee ook hun interacties met de werkplekken in de hersenen, die op zichzelf ook door de ziekte beïnvloed kunnen zijn.

In samenwerking met onder meer Dr Dymphy Huntjes van Janssen Pharmaceutica en Dr Jeroen Elaiassais-Schaap doet Anthony Gebhart zijn promotieonderzoek naar de relatie tussen medicijnconcentraties in de darm, de darmwand en het bloed, om uiteindelijk te kunnen voorspellen welk medicijn met welke concentraties het beste colon kanker zou kunnen bestrijden. Voor u is het wellicht interessant te weten dat er een aantal belangrijke overeenkomsten zijn tussen de BBB en de darmwand als barriere.

Dan in een samenwerking met onder anderen Dr Jonathan Mochel van IOWA State university in the Verenigde Staten doet de postdoc Yeon-Jung Seo onderzoek naar de ziekte van Parkinson en het verbeteren van de behandeling daarvan met L-DOPA, gebruik makend van het hersenmedicijnnavigatie-systeem voor L-DOPA en de werking daarvan in hersenen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een geheime formulering, en ik kan daar nu niets meer over vertellen.

In samenwerking met Prof Elga de Vries van het Amsterdam Universitair Medisch Centrum, Dr Geert Jan Groeneveld van het Center for Human Drug Research, en Dr Eric Wong van UCB, doet Tian Qin, doet zijn

promotieonderzoek naar het in een vroeg stadium kunnen opsporen van de ziekte van Alzheimer (AD). Ook de postdocs Luc Bischoff en Frederique Kok zijn op het gebied van AD werkzaam. AD is een speerpunt geworden in ons team omdat er ondanks alle inspanningen in onderzoek naar AD, nog geen manier gevonden om deze ziekte te behandelen en recente klinische onderzoeken opnieuw mislukt zijn. Naar mijn mening is het grootste probleem in ook weer het tot nog toe uitgevoerde onderzoek naar deze ziekte, dat de complexiteit ervan in feite niet serieus genomen wordt. Er zijn zoveel publicaties naar ditjes en datjes van AD maar er mist het onderzoek over de onderlinge samenhang in het verloop van AD.

Om mogelijke behandeling of misschien wel genezing voor de ziekte van Alzheimer te kunnen vinden, moeten we dingen echt anders doen. Het is tijd voor een diepgaande, systematische en samenhangende onderzoeksbenadering in het ontrafelen van het begin en de verdere ontwikkeling van deze ziekte. We moeten veel breder en systematischer onderzoek doen. De mastermind onderzoeksmethode in het kwadraat als het ware. Helaas hebben we een cultuur waarin de zucht naar hypes en snelle en vele publicaties regeert. Ook onderzoeksfinancieringsinstanties vereisen snelle resultaten, terwijl de beoordeling van de prestaties van onderzoekers met name gaat over die van de individuele onderzoekers. Zo'n setting geeft weinig ruimte aan diepgaande, systematische en samenhangende onderzoeksbenadering. Wat mij betreft moet dat anders. Want waar gaat het eigenlijk echt om? Gaat het om macht en status, of willen we echt problemen oplossen? Ik blijf hopen op het laatste.

Als we dan kijken naar het type informatie dat we van AD kunnen verkrijgen van mensen, dan zien we dat deze zeer beperkt is. In cohortstudies zoals de Rotterdam Elderly Study zijn vele gezonde personen geïnccludeerd, die dan in hun leven gevolgd worden waarbij bloed en soms cerebrospinale vloeistof verzameld wordt, en mogelijk vragenlijsten worden bijgehouden die betrekking hebben op het denkvermogen, het vermogen om dingen te leren, onthouden en ook het uitwisselen van ken-

nis van een bepaalde persoon. De mogelijke ontwikkeling van AD in een deel van deze personen kan daarmee, achteromkijkend, in verband gebracht worden met allerlei stoffendie we in bloed- en / of cerebrospinaalzouden kunnen meten, en de gegevens van de vragenlijsten. Maar omdat er, natuurlijk, geen monsters van de hersenen genomen worden, zal het onduidelijk blijven wat er feitelijk in de hersenen gebeurt, en zullen we daarmee geen mechanistische inzichten verkrijgen.

De vraag is verder wat Big Data ons in AD aan inzichten zou kunnen leveren. Er zijn erg veel data, en naast de vraag of al die data wel van goede kwaliteit zijn (want hoe controleer je dat?) en denk ik niet dat we met de Big data op het gebied van AD mechanistische inzichten kunnen verkrijgen.

Er zijn twee opties. Of we accepteren dat er voor ziekten als AD, geen betere medicijnen beschikbaar zullen komen. Of, we zullen toch via proefdieronderzoek verdere inzichten moeten verkrijgen, omdat er geen AD organoiden of AD-on-a-chip bestaan of op korte termijn beschikbaar zullen komen. Wij hebben onze plannen klaar en het protocol voor deze aanpak is goedgekeurd. De toekomst zal uitwijzen of dit een verstandige keuze is geweest.

Dankwoord

Allereerst ben ik het College van Bestuur en de Faculteit Wetenschappen en Natuurwetenschappen dankbaar voor mijn aanstelling als hoogleraar en het in mij gestelde vertrouwen.

Voorts ben ik veel dank verschuldigd aan mijn leermeesters Prof Douwe Breimer, de Pater Familias van de Leidse Farmacologie, en Prof Meindert Danhof. Jullie hebben me laten ontwikkelen als farmacoloog, en hebben me geleerd mijn eigen weg te vinden in de academische organisatie, and beyond. Verder natuurlijk heel veel dank aan Prof Margareta Hammarlund-Udenaes voor alle waardevolle discussies en de ook ontelbare activiteiten die we met zoveel plezier samen hebben mogen organiseren en alle persoonlijke gesprekken in een veel bredere context die eveneens heel belangrijk zijn geweest.

Graag wil ik mijn voormalige PhD studenten hartelijk bedanken voor de bijzondere samenwerkingen waar ik met zeer veel genoeg op terugkijk: Dorien Groenendaal, Tamara van Steeg, Paulien Ravenstijn, Joost Westerhout, Jasper Stevens, Yumi Yamamoto, Wilbert de Witte en Willem van der Brink. Dank ook voor de zeer leerzame samenwerkingen met de professoren Piet Hein vd Graaf, Thomas Hankemeier, Ad IJzerman, en de doctoren Jan Freijer, Stina Syvanen, Gert Luurtsema, Pieter Gaillard, Rob Voskuyl, Hans Proost, Coen van Hasselt, Jeroen Ellaissais-Schaap, Laura Heitman en Amy Harms. Verder hebben in vroegere jaren Mariska Langemeijer en Erica Tukker, en in de meer recentere jaren Dirk-Jan vd Berg en Robin Hartman een zeer belangrijke bijdrage aan al het onderzoek geleverd. Het samen onderzoek doen is een feest en is veel ook meer waard dan het doen van onderzoek alleen.

Ook de samenwerkingen met de vele collegas uit de farmaceutische industrie, zoals GSK, Lilly, Pfizer, Astellas, Takeda, en Janssen, zijn erg belangrijk en interessant geweest. Hiervan wil ik Prof An Vermeulen en Dr Dymphy Huntjes van Janssen Pharmaceutica met name noemen. Maar natuurlijk ben ik ook alle andere collegas dankbaar van de Top Instituut Pharma projecten, het PKPD modeling platform, de Europese consortia van EURIPIDES, Drug Disease Modelling Resources (DDMORE), en Kinetics for Drug Discovery (K4DD), en de vele dierbare collegas en studenten van de voormalige afdeling Farmacologie alsook de huidige afdeling van de “systems biomedicine and Pharmacology” van het LACDR.

Dan natuurlijk dank aan alle samenwerkingen in de huidige onderzoeken die ik al heb genoemd.

Graag wil ik ook nog de American Association of Pharmaceutical Scientists noemen. In deze omgeving heb ik met erg veel internationale collegas samen mogen werken aan programma's voor, kort samengevat, het uitwisselen van kennis in de farmaceutische wetenschappen tussen onderzoekers, van industrie en academie, jong en oud, mogelijk maakten. Ik heb daar ook de

kans gekregen leiderschap te ontwikkelen in een heel positieve setting.

Mijn speciale dank gaat verder uit naar Professor Hubertus Irth, de wetenschappelijke directeur van het LACDR, de collegas in het onderwijs, in de Examencommissie, met name Dr Bram Slutter en Dr Daan van Es, het verdere LACDR.

We hebben een pracht instituut en hebben in het onderwijs de enorme toestroom van studenten in de afgelopen jaren het hoofd kunnen bieden. Ik hoop dat de grenzen van onze vermogens door het universitaire bestel gerespecteerd worden zodat we de toekomst goed aankunnen met kwaliteit in onderwijs en onderzoek. Daarvoor moeten we wel de tijd krijgen.

Rest mij verder mijn familie en vrienden te bedanken voor alle goede momenten samen!

Mijn ouders zijn er niet meer, maar hebben me een start in het leven gegeven waar ik nog altijd dankbaar voor ben. Heel idealistisch, ook wel wat naïef, maar een betere basis had ik me niet kunnen wensen. Mijn zussen en broer, jullie zijn er nog en onze band is sterk en heel belangrijk voor me.

Verder natuurlijk last but not least Erik, Sjoerd en Casper. Sjoerd en Casper, nu grote zonen. Ik ben enorm blij met en enorm trots op jullie! En Erik, al ben je niet de makkelijkste voor me, je bent wel de beste! Ik heb, ondanks mijn eigenwijsheid, zoveel van je geleerd. Jouw steun is me zoveel waard. We hebben verder, ook met onze jongens, zoveel mooie dingen meegemaakt, en ik kijk uit naar de rest van ons leven samen.

Ik heb gezegd

Referenties

14

1. De Lange ECM, Danhof M, De Boer AG and Breimer DD: Methodological Considerations of Intracerebral Microdialysis in Pharmacokinetic Studies on Blood-Brain Barrier Transport of Drugs. *Brain Res Revs*, 25; 27-49, 1997.
2. De Lange ECM, De Boer AG, and Breimer DD. Microdialysis for Pharmacokinetic Analysis of Drug Transport to the Brain. In: *Blood-Brain Barrier as a Dynamic Interface of Drug Delivery to the Brain*. Ed. A. Tsuij. *Adv Drug Del Revs*, 36; 211-217, 1999.
3. De Lange ECM, de Bock G, Schinkel AH, De Boer AG, and Breimer DD: BBB transport and P- glycoprotein Functionality Using *mdr1a* (-/-) and Wild-type mice. *Total Brain Versus Microdialysis Concentration Profiles of Rhodamine-123*. *Pharm Res*, 15: 1657-1665, 1998
4. Wijnholds J & De Lange ECM (shared first author), van den Berg DJ, Scheffer GL, van der Valk M, Schinkel AH, Scheper RJ, Breimer DD and Borst P. Multidrug-Resistance Protein 1 Protects the Choroid Plexus Epithelium and Contributes to the Blood-Cerebrospinal Fluid Barrier. *J Clin Invest*, 105: 279-285, 2000
5. De Lange E, Hammarlund-Udenaes M. Translational aspects of blood-brain barrier transport and central nervous system effects of drugs: From discovery to patients. *Clin Pharmacol Ther*. 2015 Apr;97(4):380-94. doi: 10.1002/cpt.76.
6. De Lange ECM, van der Brink W, Yamamoto Y, de Witte W, Wong YC. Novel CNS drug discovery and development approach: model-based integration to predict neuro-pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Expert Opin Drug Discov*. 2017 Dec;12(12):1207-1218. doi: 10.1080/17460441.2017.1380623.
7. Syvänen S, M Schenke, DJ van den Berg, RA Voskuyl and ECM de Lange. Alteration in P- glycoprotein functionality affects intrabrain distribution of drugs more than brain entry - A study in rats subjected to status epilepticus by kainate. *AAPS J*; 14(1): 87-96, 2012 .
8. De Lange ECM, van der Brink W, Yamamoto Y, de Witte W, Wong YC. Novel CNS drug discovery and development approach: model-based integration to predict neuro-pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Expert Opin Drug Discov*. 2017 Dec;12(12):1207-1218. doi: 10.1080/17460441.2017.1380623.
9. De Lange ECM. The mastermind approach to CNS drug therapy: translational prediction of human brain distribution, target site kinetics, and therapeutic effects. *Fluids and Barriers of the CNS* 2013, 10:12
10. Yamamoto Y, Väitalo PA, Huntjens DR, Proost JH, Vermeulen A, Krauwinkel W, Beukers MW, van den Berg DJ, Hartman RH, Wong YC, Danhof M, van Hasselt JG, de Lange EC. Predicting drug concentration-time profiles in multiple CNS compartments using a comprehensive physiologically-based pharmacokinetic model. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2017 Sep 11. doi: 10.1002/psp4.12250
11. Yamamoto Y, Väitalo PA, Wong YC, Huntjens DR, Proost JH, Vermeulen A, Krauwinkel W, Beukers MW, van den Berg DJ, Hartman RH, Wong YC, Danhof M, Kokkif H, Kokkif M, van Hasselt JGC, de Lange ECM. Prediction of human CNS pharmacokinetics using a physiologically-based pharmacokinetic modeling approach. *Eur J Pharm Sci*. 2018 Jan 15;112:168-179.
12. Yamamoto Y, Danhof M, de Lange EC. Microdialysis: the Key to Physiologically Based Model Prediction of Human CNS Target Site Concentrations. *AAPS J*. 2017 Mar 9. doi: 10.1208/s12248-017-0050-3.
13. De Witte WEA, Danhof M, van der Graaf PH, de Lange EC. The implications of target saturation for the use of drug-target residence time. *Nat Rev Drug Discov*. 2018 Dec 28;18(1):82-84].
14. Vlot AHC, Witte WEA, Danhof M, van der Graaf PH, van Westen GJP, de Lange ECM. Target and tissue selectivity prediction by integrated mechanistic pharmacokinetic-

target binding and quantitative structure activity modelling AAPSJ. 2017 Dec 4;20(1):11. doi: 10.1208/s12248-017-0172-7.

15. Van der Brink W, Hankemeier Th, Van der Graaf PH, de Lange ECM. Bundling arrows: improving translational CNS drug development by integrated PK/PD-metabonomics. *Expert Opin Drug Discov.* 2018 Jun;13(6):539-550. doi: 10.1080/17460441.2018.1446935.

For further reading:

- Abbott NJ, Patabendige AAK, Dolman DEM, et al. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis* 2010;37(1):13–25
- Abbott NJ, Rönnbäck L, Hansson E. Astrocyte–endothelial interactions at the blood–brain barrier. *Nat Rev Neurosci* 2006;7(1):41–53
- Bagli M, SR, Quadflieg R, et al. Pharmacokinetic–pharmacodynamic modeling of tolerance to the prolactin-secreting effect of chlorprothixene after different modes of drug administration. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;291(2):547–54
- Ball K. A Physiologically Based Modeling Strategy during Pre-clinical CNS Drug Development. 2014;
- Bendels S, Kansy M, Wagner B, et al. In silico prediction of brain and CSF permeation of small molecules using PLS regression models. *Eur J Med Chem* 2008;43(8):1581–92
- Bergen AA, Kaing S, ten Brink JB, et al. Gene expression and functional annotation of human choroid plexus epithelium failure in Alzheimer’s disease. *BMC Genomics* 2015;16(1):956
- Bettler B, Fakler B. Ionotropic AMPA-type glutamate and metabotropic GABA B receptors: determining cellular physiology by proteomes. *Curr Opin Neurobiol* 2017;45:16–23
- Borroto-Escuela DO, Carlsson J, Ambrogini P, et al. Understanding the Role of GPCR Heteroreceptor Complexes in Modulating the Brain Networks in Health and Disease. *Front Cell Neurosci* 2017;11(February):1–20
- Borsook D, Becerra L, Fava M. Use of functional imaging across clinical phases in CNS drug development. *Transl Psychiatry* 2013;3(7):e282
- Bot I, Ortiz Zacarías N V., de Witte WEA, et al. A novel CCR2 antagonist inhibits atherogenesis in apoE deficient mice by achieving high receptor occupancy. *Sci Rep* 2017;7(1):52
- Boxenbaum H. Interspecies scaling, allometry, physiological time, and the ground plan of pharmacokinetics. *J Pharmacokinet Biopharm* 1982;10(2):201–27
- Brawek B, Garaschuk O. Monitoring in vivo function of cortical microglia. *Cell Calcium* 2017;64:109–17
- Brochot A, Zamacona M, Stockis A. Physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic animal-to-man prediction of therapeutic dose in a model of epilepsy. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010;106(3):256–62
- Chan PLS, Nutt JG, Holford NHG. Modeling the short- and long-duration responses to exogenous levodopa and to endogenous levodopa production in Parkinson’s disease. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2004;31(3):243–68
- Chen H, Winiwarter S, Fridén M, et al. In silico prediction of unbound brain-to-plasma concentration ratio using machine learning algorithms. *J Mol Graph Model* 2011;29(8):985–95
- Cho YS, Kwon HJ. Identification and validation of bioactive small molecule target through phenotypic screening. *Bioorg Med Chem* 2012;20(6):1922–8
- Clement P, Mutsaerts H-J, Václav L, et al. Variability of physiological brain perfusion in healthy subjects – A systematic review of modifiers. Considerations for multi-center ASL studies. *J Cereb Blood Flow Metab* 2017;0271678X1770215
- Cleton A, Odman J, Van der Graaf PH, et al. Mechanism-based modeling of functional adaptation upon chronic treatment with midazolam. *Pharm Res* 2000;17(3):321–7
- Danhof M, Alvan G, Dahl SG, et al. Mechanism-Based Pharmacokinetic–Pharmacodynamic Modeling—A New Classification of Biomarkers. *Pharm Res* 2005;22(9):1432–7
- Danhof M, de Lange E, Della Pasqua O, et al. Mechanism-based pharmacokinetic–pharmacodynamic (PK–PD) modeling in translational drug research. *Trends Pharmacol Sci* 2008;29(4):186–91
- de Lange EC. The mastermind approach to CNS drug therapy: translational prediction of human brain distribution, target site kinetics, and therapeutic effects. *Fluids Barriers CNS* 2013;10(1):12
- de Lange ECM, Ravenstijn PGM, Groenendaal D, et al. Toward the prediction of CNS drug-effect profiles in physiological and pathological conditions using microdialysis and

- mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling. *AAPS J* 2005;7(3):E532–43
- de Lange ECM. PBPK Modeling Approach for Predictions of Human CNS Drug Brain Distribution. *Blood-Brain Barrier in Drug Discovery* 2015. p. 296–323
- de Lange ECM. Pharmacometrics in Psychiatric Diseases. In: Schmidt S, Derendorf H, editors. *Applied Pharmacometrics* New York, NY; 2014. p. 407–49
- de Witte WE, Wong YC, Nederpelt I, et al. Mechanistic models enable the rational use of in vitro drug-target binding kinetics for better drug effects in patients. *Expert Opin Drug Discov* 2016;11(1):45–63
- de Witte WEA, Danhof M, van der Graaf PH, et al. In vivo Target Residence Time and Kinetic Selectivity: The Association Rate Constant as Determinant. *Trends Pharmacol Sci* 2016;37(10):831–42
- Dumas M-E, Davidovic L. Metabolic Profiling and Phenotyping of Central Nervous System Diseases: Metabolites Bring Insights into Brain Dysfunctions. *J Neuroimmune Pharmacol* 2015;10(3):402–24
- Erd F, Denes L, de Lange E. Age-associated physiological and pathological changes at the blood-brain barrier: A review. *J Cereb Blood Flow Metab* 2017;37(1):4–24
- Espié P, Tytgat D, Sargentini-Maier M-L, et al. Physiologically based pharmacokinetics (PBPK). *Drug Metab Rev* 2009;41(3):391–407
- Finnema SJ, Scheinin M, Shahid M, et al. Application of cross-species PET imaging to assess neurotransmitter release in brain. *Psychopharmacology (Berl)* 2015;232(21–22):4129–57
- Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, et al. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev* 2000;80(4):1523–631
- Fridén M, Gupta A, Antonsson M, Bredberg U H-UM. In Vitro Methods for Estimating Unbound Drug Concentrations in. *Drug Metab Dispos* 2007;35(9):1711–9
- Fridén M, Winiwarter S, Jerndal G, et al. Structure-brain exposure relationships in rat and human using a novel data set of unbound drug concentrations in brain interstitial and cerebrospinal fluids. *J Med Chem* 2009;52(20):6233–43
- Gaohua L, Neuhoff S, Johnson TN, et al. Development of a permeability-limited model of the human brain and cerebrospinal fluid (CSF) to integrate known physiological and biological knowledge: Estimating time varying CSF drug concentrations and their variability using in vitro data. *Drug Metab Pharmacokinet* 2016;31(3):224–33
- Garrido M, Gubbens-Stibbe J, Tukker E, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis of the EEG effect of alfenitanil in rats following beta-funaltrexamine-induced mu-opioid receptor “knockdown”; in vivo. *Pharm Res* 2000;17(6):653–9
- Groenendaal D, Freijer J, Mik D, et al. Influence of biophase distribution and P-glycoprotein interaction on pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of the effects of morphine on the EEG. *Br J Pharmacol* 2007;151(5):713–20
- Groenendaal D, Freijer J, Rosier A, et al. Pharmacokinetic/ pharmacodynamic modelling of the EEG effects of opioids: The role of complex biophase distribution kinetics. *Eur J Pharm Sci* 2008;34(2–3):149–63
- Groeneveld GJ, Hay JL, Van Gerven JM. Measuring blood-brain barrier penetration using the NeuroCart, a CNS test battery. *Drug Discov Today Technol* 2016;20:27–34
- Grumetto L, Russo G, Barbato F. Immobilized Artificial Membrane HPLC Derived Parameters vs PAMPA-BBB Data in Estimating in Situ Measured Blood-Brain Barrier Permeation of Drugs. *Mol Pharm* 2016;13(8):2808–16
- Holford N, Nutt JG. Disease progression, drug action and Parkinson’s disease: Why time cannot be ignored. *Eur J Clin Pharmacol* 2008;64(2):207–16
- Huntley MA, Bien-Ly N, Daneman R, et al. Dissecting gene expression at the blood-brain barrier. *Front Neurosci* 2014;8:355
- Hutson PH, Clark JA, Cross AJ. CNS Target Identification and Validation: Avoiding the Valley of Death or Naive Optimism? *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2017;57(1):171–87

- Johnson M, Kozielska M, Pilla Reddy V, et al. Translational Modeling in Schizophrenia: Predicting Human Dopamine D2 Receptor Occupancy. *Pharm Res* 2016;33(4):1003–17
- Jonker DM, Vermeij DAC, Edelbroek PM, et al. Pharmacodynamic analysis of the interaction between tiagabine and midazolam with an allosteric model that incorporates signal transduction. *Epilepsia* 2003;44(3):329–38
- Joshi EM, Need A, Schaus J, et al. Efficiency Gains in Tracer Identification for Nuclear Imaging: Can In Vivo LC-MS/MS Evaluation of Small Molecules Screen for Successful PET Tracers? *ACS Chem Neurosci* 2014;5(12):1154–63
- Kaddurah-Daouk R, Kristal BS, Weinshilboum RM. Metabolomics: A Global Biochemical Approach to Drug Response and Disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2008;48(1):653–83
- Kapur S, Zipursky R, Jones C, et al. Relationship Between Dopamine D2 Occupancy, Clinical Response, and Side Effects: A Double-Blind PET Study of First-Episode Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2000;157(4):514–20
- Karamanos Y, Pottiez G. Proteomics and the blood–brain barrier: how recent findings help drug development. *Expert Rev Proteomics* 2016;13(3):251–8
- Kilkenny C, Browne W, Cuthill IC, et al. Animal research: Reporting in vivo experiments: The ARRIVE guidelines. *Br J Pharmacol* 2010;160(7):1577–9
- Krause JE, Chenard BL. Opportunities and Challenges in the Discovery of New Central Nervous System Drugs. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1144(1):243–50
- Kubo Y, Ohtsuki S, Uchida Y, et al. Quantitative Determination of Luminal and Abluminal Membrane Distributions of Transporters in Porcine Brain Capillaries by Plasma Membrane Fractionation and Quantitative Targeted Proteomics. *J Pharm Sci* 2015;104(9):3060–8
- Kvernmø T, Härtter S, Burger E. A review of the receptor-binding and pharmacokinetic properties of dopamine agonists. *Clin Ther* 2006;28(8):1065–78
- Lavé T, Caruso A, Parrott N, et al. Translational PK/PD modeling to increase probability of success in drug discovery and early development. *Drug Discov Today Technol* 2016;21–22:27–34
- Liefwaard CL, Tagawa Y, Danhof M, et al. Population Pharmacokinetic / Pharmacodynamic Analysis of Different Subunit Selective GABAergic Ligands in an Animal Model of Epilepsy. 2002;(2):2002
- Liu S, Cai W, Liu S, et al. Multimodal neuroimaging computing: a review of the applications in neuropsychiatric disorders. *Brain Informatics* 2015;2(3):167–80
- Loryan I, Fridén M, Hammarlund-Udenaes M. The brain slice method for studying drug distribution in the CNS. *Fluids Barriers CNS* 2013;10(1):6
- Loryan I, Sinha V, Mackie C, et al. Mechanistic Understanding of Brain Drug Disposition to Optimize the Selection of Potential Neurotherapeutics in Drug Discovery. *Pharm Res* 2014;31(8):2203–19
- Loryan I, Sinha V, Mackie C, et al. Molecular properties determining unbound intracellular and extracellular brain exposure of CNS drug candidates. *Mol Pharm* 2015;12(2):520–32
- Morgan P, Van Der Graaf PH, Arrowsmith J, et al. Can the flow of medicines be improved? Fundamental pharmacokinetic and pharmacological principles toward improving Phase II survival. *Drug Discov Today* 2012;17(9–10):419–24
- Mukherjee J, Yang Z-Y, Lew R, et al. Evaluation of d -Amphetamine Effects on the Binding of Dopamine D-2 Receptor Radioligand , 18F-Fallypride in Nonhuman Primates Using Positron Emission Tomography. *Synapse* 1997;27(1):1–13
- Müller UC, Deller T, Korte M. Not just amyloid: physiological functions of the amyloid precursor protein family. *Nat Rev Neurosci* 2017;18(5):281–98
- Nederpelt I, Bunnik J, IJzerman AP, et al. Kinetic Profile of Neuropeptide–Receptor Interactions. *Trends Neurosci* 2016;39(12):830–9
- Perry DC, Mullis KB, Oie S, et al. Opiate antagonist receptor binding in vivo: evidence for a new receptor binding model. *Brain Res* 1980;199(1):49–61

- Ploeger BA, Van Der Graaf PH, Danhof M. Incorporating receptor theory in mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) modeling. *Drug Metab Pharmacokinet* 2009;24(1):3–15
- Preskorn SH. CNS drug development: part III: future directions. *J Psychiatr Pract* 2011;17(1):49–52
- Quinones MP, Kaddurah-Daouk R. Metabolomics tools for identifying biomarkers for neuropsychiatric diseases. *Neurobiol Dis* 2009;35(2):165–76
- Sawada Y, Kawai R, McManaway M, et al. Kinetic analysis of transport and opioid receptor binding of [³H](–)-cyclofoxy in rat brain in vivo: implications for human studies. *J Cereb Blood Flow Metab* 1991;11(2):183–203
- Schuetz DA, de Witte WEA, Wong YC, et al. Kinetics for Drug Discovery: an industry-driven effort to target drug residence time. *Drug Discov Today* 2017;
- Shimada S, Nakajima Y, Yamamoto K, et al. Comparative pharmacodynamics of eight calcium channel blocking agents in Japanese essential hypertensive patients. *Biol Pharm Bull* 1996;19(3):430–7
- Slifstein M, Abi-Dargham A. Recent Developments in Molecular Brain Imaging of Neuropsychiatric Disorders. *Semin Nucl Med* 2017;47(1):54–63
- Stevens J, Ploeger BA, Hammarlund-Udenaes M, et al. Mechanism-based PK-PD model for the prolactin biological system response following an acute dopamine inhibition challenge: Quantitative extrapolation to humans. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 2012;39(5):463–77
- Uchida Y, Tachikawa M, Obuchi W, et al. A study protocol for quantitative targeted absolute proteomics (QTAP) by LC-MS/MS: application for inter-strain differences in protein expression levels of transporters, receptors, claudin-5, and marker proteins at the blood–brain barrier in ddY, FVB, an. *Fluids Barriers CNS* 2013;10(1):21
- Uchida Y, Zhang Z, Tachikawa M, et al. Quantitative targeted absolute proteomics of rat blood-cerebrospinal fluid barrier transporters: comparison with a human specimen. *J Neurochem* 2015;134(6):1104–15
- Van der Graaf PH, Stam WB. Analysis of receptor inactivation experiments with the operational model of agonism yields correlated estimates of agonist affinity and efficacy. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1999;41(2–3):117–25
- van der Greef J, Martin S, Juhasz P, et al. The Art and Practice of Systems Biology in Medicine: Mapping Patterns of Relationships. *J Proteome Res* 2007;6(4):1540–59
- van der Greef J, McBurney RN. Rescuing drug discovery: in vivo systems pathology and systems pharmacology. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4(12):961–7
- Van der Schyf CJ. Psychotropic Drug Development Strategies that Target Neuropsychiatric Etiologies in Alzheimer’s and Parkinson’s Diseases. *Drug Dev Res* 2016;77(8):458–68
- van Schaick EA, Tukker HE, Roelen HCP, et al. Selectivity of action of 8-alkylamino analogues of N 6 -cyclopentyladenosine in vivo : haemodynamic versus anti-lipolytic responses in rats. *Br J Pharmacol* 1998;124(3):607–18
- Varadharajan S, Winiwarter S, Carlsson L, et al. Exploring in silico prediction of the unbound brain-to-plasma drug concentration ratio: Model validation, renewal, and interpretation. *J Pharm Sci* 2015;104(3):1197–206
- Wang Y, Welty DF. The simultaneous estimation of the influx and efflux blood-brain barrier permeability of gabapentin using a microdialysis-pharmacokinetic approach. *Pharmaceutical Research*. 1996. p. 398–403
- Watson J, Wright S, Lucas A, et al. Receptor occupancy and brain free fraction. *Sect Title Pharmacol* 2009;37(4):753–60
- Westerhout J, Ploeger B, Smeets J, et al. Physiologically based pharmacokinetic modeling to investigate regional brain distribution kinetics in rats. *AAPS J* 2012;14(3):543–53
- Westerhout J, Van Den Berg DJ, Hartman R, et al. Prediction of methotrexate CNS distribution in different species - Influence of disease conditions. *Eur J Pharm Sci* 2014;57(1):11–24
- Wong YC, Ilkova T, van Wijk R, et al. Development of a population pharmacokinetic model to predict brain distribution and dopamine D2 receptor occupancy of raclopride

- in non-anesthetized rat. 2017;Manuscript submitted
- Xia J, Wishart DS. MSEA: a web-based tool to identify biologically meaningful patterns in quantitative metabolomic data. *Nucleic Acids Res* 2010;38(Web Server):W71–7
- Yamazaki S, Shen Z, Jiang Y, et al. Application of target-mediated drug disposition model to small molecule heat shock protein 90 inhibitors. *Drug Metab Dispos* 2013;41(6):1285–94
- Yassen A, Olofsen E, Dahan A, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the antinociceptive effect of buprenorphine and fentanyl in rats: role of receptor equilibration kinetics. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;313(3):1136–49

PROF DR ELIZABETH CM DE LANGE



2018- heden	Professor in Voorspellende farmacologie
2017- heden	Hoofdonderzoeker in Voorspellende Farmacologie
2014-2017	Uitvoerend hoofd LACDR/Farmacology
2013-2018	Universitair Hoofddocent LACDR/Farmacology
2004-2016	Head Target Site Equilibration Group LACDR/Farmacology (Tenured)
2001-2004	Universitair Docent LACDR/Farmacology (Tenure track)
1989-1993	Promotieonderzoek LACDR/Farmacology
1985-1989	Studie Biofysische Chemie Rijksuniversiteit Groningen

Prof. Elizabeth de Lange is opgeleid tot chemicus, met een specialisatie in Biophysische Chemie (Rijksuniversiteit Groningen, Nederland). Zij promoveerde in de farmacologie (Leiden Academic Center for Drug Research (LACDR), Universiteit Leiden, Nederland). Ze is momenteel hoofdonderzoeker op het gebied van de Voorspellende Farmacologie binnen de divisie “Systems Biomedicine & Pharmacology” van het LACDR. Haar doel is om de effecten van farmaca in individuen adequaat te kunnen voorspellen met behulp van voorspellende farmacologische (translationele) benaderingen.

Na het toedienen van een medicijn moet een medicijn op zijn werkplek kunnen komen, om daar vervolgens aan te slag te gaan en een invloed te hebben op lichaamsprocessen, die uiteindelijk met elkaar het effect van het medicijn bepalen. In haar oratie richt Elizabeth de Lange zich voornamelijk op het onderzoek aan medicijnen voor de hersenen en zal ze u proberen te overtuigen van de noodzaak om in het onderzoek en in de ontwikkeling van hersenmedicijnen, ten behoeve van de voorspelbaarheid in meerdere situaties, veel meer aandacht te geven aan de tijdsafhankelijkheid en de onderlinge afhankelijkheid van de vele processen die de werking van medicijnen bepalen, en hierin ook de ziekteprocessen mee te nemen.



Universiteit
Leiden