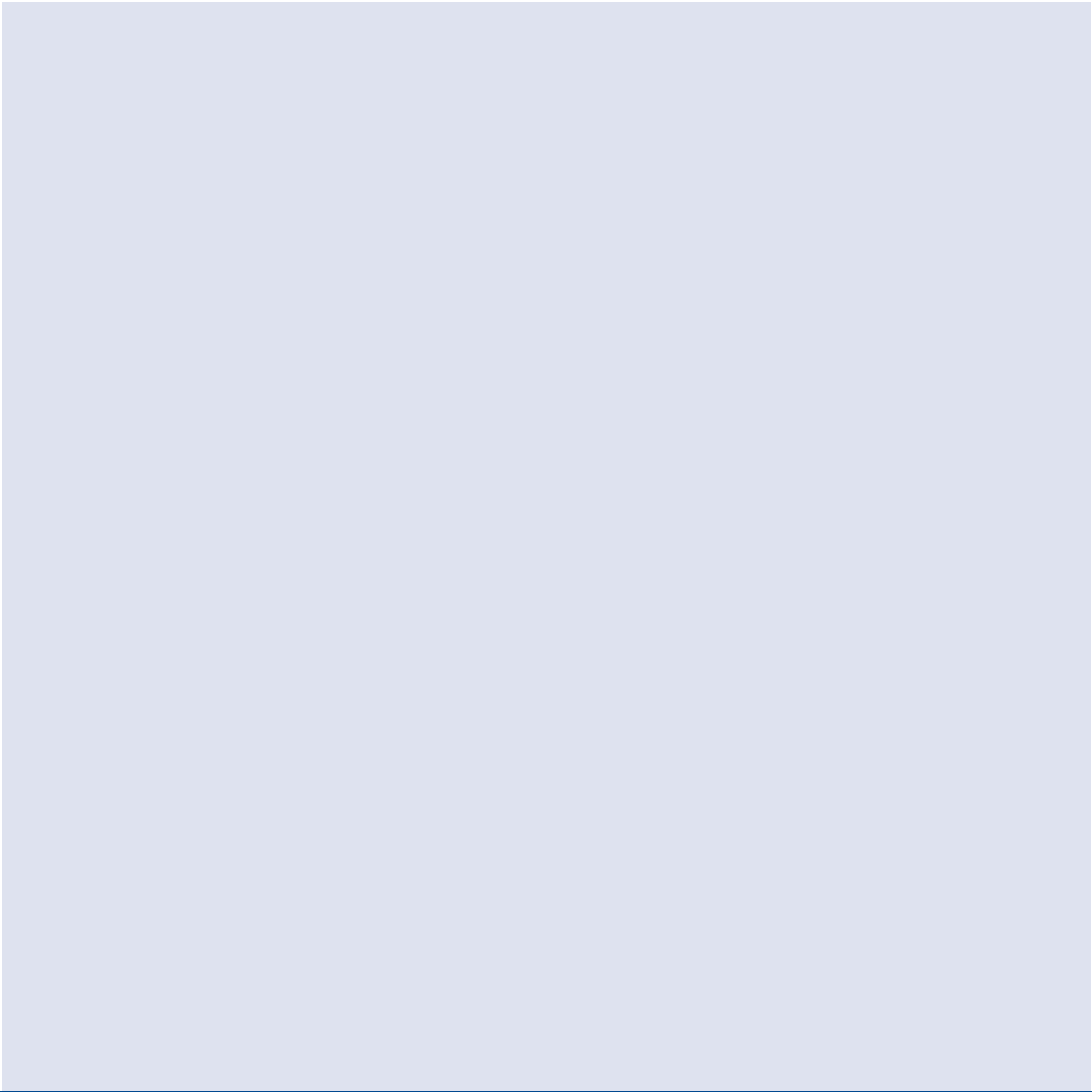


Prof.dr. B. van de Water

# Cellulaire 'systeempsihologie' en geneesmiddeltoxiciteit



Universiteit Leiden



# Cellulaire 'systeempsihologie' en geneesmiddeltoxiciteit

Oratie uitgesproken door

Prof.dr. B. van de Water

bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar op het gebied van

Drug Safety Science

aan de Universiteit Leiden

op vrijdag 9 maart 2007



Universiteit Leiden

*Mijnheer de Rector Magnificus, zeer gewaardeerde toehoorders,*

## Gifmengers van alle tijden.

Alles is giftig! Met die gedachte stapt u natuurlijk niet graag de apotheek binnen. Alles is giftig. Dit zei de Zwitserse arts Paracelsus al bijna vijfhonderd jaar geleden. Dus toch maar niet die broodnodige geneesmiddelen slikken. Alles is giftig, alleen de mate waarin iets wordt ingenomen bepaalt de giftigheid. Dat waren zijn meer exacte woorden. Dus toch maar wel die deur door van de apotheek. Ongetwijfeld slikken, spuiten of inhaleren velen van u geneesmiddelen: bloeddrukverlagende middelen, antiasthmamiddelen of bloedsuikerverlagende middelen. U zit hier ook allemaal in redelijk goede gezondheid. Dat doet mij deugd, maar dat was wellicht niet waar geweest als u deze geneesmiddelen niet tot u zou hebben genomen. Daarom zouden we hier kunnen concluderen dat de geneesmiddelen die u momenteel slikt niet alleen in grote mate veilig zijn, maar zeker ook bijdragen aan uw kwaliteit van leven en, indirect, uw levensgeluk. En op een dag als vandaag doet me dat extra deugd.

Mijn vakgebied houdt zich bezig met de veiligheid van geneesmiddelen oftewel *drug safety science*. Vragen die we beantwoorden zijn: wanneer is een geneesmiddel veilig en wanneer niet? Wat bepaalt deze veiligheid? Wat is datgene dat een geneesmiddel onveilig maakt? Raken in het lichaam biologische processen verstoord waardoor organen niet meer goed functioneren? Leidt deze verstoorde orgaanfunctie tot juist een nieuwe 'ziekte' die eventueel zelfs levensbedreigend kan zijn? Welke cellen in deze organen worden nadelig beïnvloed? Hoe reageren cellen op deze nieuwe situatie en wat betekent dit voor het desbetreffende orgaan en uiteindelijk het hele individu op korte termijn, maar ook op lange termijn?

Gifmengers zijn er al zolang mensen bestaan. Van ontwikkelde antieke Griekse en Romeinse culturen om de *magnificus* of *magnifici in spe* uit de weg te ruimen met behulp van slangengif, tot primitieve indianenstammen die curare gebruikten om met pijl en boog prooi of vijand te verlammen. Zelfs in de beschaafd geachte hedendaagse moderne maatschappij worden ex-geheim agenten niets vermoedend definitief uitgeschakeld door hen een hoge dosis radioactief polonium 210 in hun thee te voeren, opdat ze vervolgens een langzaam sterfteproces ondergaan. Wat al deze gifmengers niet wisten en weten proberen wij als *drug safety scientists* (en toxicologen) in detail te begrijpen: wat is het moleculaire mechanisme van deze giftige activiteit?

Mooie praatjes, zult u denken, maar hoe en wat kan deze jonge hoogleraar de resterende 25 jaar van zijn wetenschappelijke carrière hieraan bijdragen. Ik ga u hierin vandaag meer inzicht geven.

## Geneesmiddelveiligheid: een hellend vlak.

Ontwikkelingen binnen de wereldwijde farmaceutische industrie hebben momenteel een nieuwe slogan: *novel safer medicines faster*. Vrij vertaald: nieuwe veilige geneesmiddelen sneller ontwikkelen. U ziet, we spreken hier over veiligheid van een geneesmiddel. Geneesmiddelen moeten veilig zijn maar kunnen, en, afhankelijk van de ernst van de ziekte, mogen ook bijwerkingen hebben die acceptabel zijn voor de patiënt. Zo zal een geneesmiddel met milde bijwerkingen, bijvoorbeeld verminderd concentratievermogen tijdens het autorijden, en geen ernstige schadelijke bijwerkingen, zoals verlies van het functioneren van een vitaal orgaan als de lever, niet als erg toxisch worden beschouwd. In tegenstelling: wanneer we spreken over een verminderd functioneren van het

afweersysteem door het gebruik van geneesmiddelen die de afstoting van een getransplanteerd orgaan moeten onderdrukken, dan spreken we over een gewenste werking, terwijl het eigenlijk erg schadelijk voor het algemene welzijn van het organisme is.

Een probleem van een andere orde kan zich voordoen bij de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen. Een nieuw ontwikkeld geneesmiddel kan bij uitvoerig testen in proefdieren veilig bevonden worden, en zeker niet als toxisch bestempeld zijn. Echter tijdens gebruik bij mensen, hetzij gezonde vrijwilligers dan wel de uiteindelijke patiëntenpopulatie, kunnen zich onverwacht ernstige bijwerkingen voordoen die onacceptabel zijn. Na vele miljoenen geïnvesteerd te hebben in een ogenschijnlijk veilig geneesmiddel, wordt verdere ontwikkeling en marktintroductie gestaakt of wordt een geneesmiddel van de markt gehaald. Dat is natuurlijk uiterst vervelend voor de proefpersonen in de klinische studies maar ook voor patiënten die wachten op een nieuw geneesmiddel. En ook de industrie lost de belofte van de R&D investeringen niet in. Dit kan gepaard gaan met een sterke koersdaling van de farmareus-aandelen op de beurzen, met al het financiële leed daaraan gerelateerd. Een goed voorbeeld is hier het geneesmiddel met de merknaam Vioxx, van een groot Amerikaans farmaceutisch bedrijf. Deze op zich uitstekende pijnbestrijder die cyclooxygenase-2 selectief remt, bleek de kans op een hartinfarct te verhogen, zij het minimaal of zelfs bijna verwaarloosbaar.<sup>1</sup> Desalniettemin heeft dit geleid tot het verwijderen van deze blockbuster van de markt. Een scherpe koersdaling en vele miljoenen aan schadeclaims waren het gevolg. Er rijst een belangrijke vraag. Kunnen we de veiligheid van geneesmiddelen niet beter voorspellen?

Hierboven schetste ik de situatie bij nieuw te ontwikkelen geneesmiddelen. Al diegenen van u die geneesmiddelen slikken ondervinden klaarblijkelijk niet dusdanig ernstige bijwerkingen dat u hier niet aanwezig kunt zijn. Echter in Nederland vallen naar recente schatting alleen al grofweg 13.000 van de jaarlijkse acute ziekenhuisopnames onder de noemer 'ernstige geneesmiddelbijwerkingen', waarvan ongeveer zes procent met een fatale afloop.<sup>2</sup> De reden kan velerlei zijn: gecombineerd gebruik van meerdere geneesmiddelen, onjuist gebruik van geneesmiddelen, een onbewuste dan wel bewuste overdosis van geneesmiddelen, of juist het toeval dat je 1 op de zeg 100.000 patiënten bent die toevallig zeer gevoelig is voor dat bepaalde geneesmiddel. Graag zouden we willen weten hoe ernstige bijwerkingen optreden of waarom juist bij een bepaalde subpopulatie van patiënten.

### **Van veilig naar onveilig: cellen als primaire target.**

Toxiciteit en de patiënt. Waar hebben we het precies over? Wat gebeurt er precies in het lichaam? Voordat ik de cellulaire diepte in duik, wil ik u eerst een globaal beeld schetsen van geneesmiddeltoxiciteit. Ik wil dat doen aan de hand van een op zich veilig geneesmiddel dat iedereen waarschijnlijk in het medicijnkastje heeft liggen en wellicht regelmatig gebruikt: de pijnstillers paracetamol. Volwassenen niet meer dan 6 tabletten van 500 mg per etmaal, staat er op de bijsluiters. Na inname en opname krijgt paracetamol zijn pijnstillende werking. Maar het lichaam wil paracetamol ook weer kwijt. In de lever wordt paracetamol omgezet in een product dat het lichaam gemakkelijk kan verlaten. Wanneer u meer gaat slikken, zeg een handje vol, hetgeen ik u bij deze verbied!, dan krijgt de lever het ernstig te verduren. De normale processen die betrokken zijn bij het afbreken van paracetamol raken uitgeput. Een reactief tussenproduct bij de omzetting blijft echter gevormd

worden en bindt nu aan moleculen in de levercellen. De levercel zal middels allerlei processen trachten de schade te voorkomen dan wel repareren. In het ergste geval is de schade te ernstig en lukt herstel niet meer: de dood van de levercellen is dan een feit. Nu bevat de lever honderden miljoenen cellen. Een paar kunnen wel gemist worden en worden ook wel weer aangevuld. Echter bij te veel dode levercellen wordt de algehele leverfunctiecapaciteit aangetast. Belangrijke leverfuncties worden niet meer uitgevoerd, en in ernstige gevallen zal de patiënt overlijden aan de overdosis paracetamol. Een duidelijk voorbeeld van de stelling van Paracelsus: alles is giftig alleen de dosis is bepalend of er toxiciteit optreedt. Een dergelijk scenario van schade aan organen als voor paracetamol, doet zich voor bij overmatig of onjuist gebruik van alle geneesmiddelen, die in potentie zeer ernstige schadelijke bijwerkingen kunnen veroorzaken.

Geneesmiddelen die, door de nood van de therapie gedwongen, toch schade aanrichten aan gezonde cellen zijn vaak antikankergeneesmiddelen die direct of indirect het DNA aanvallen. Voor een veilige behandeling met antikankergeneesmiddelen gaat het erom te balanceren tussen het efficiënt doden van de tumorcellen en het beperken van het doden van gezonde cellen. De fysiologisch meest belangrijke vorm van celdood is apoptose, ook wel geprogrammeerde celdood genoemd. De genetici Brenner, Horvitz en Sulston zijn belangrijke grondleggers van dit celdood onderzoeksveld, en hebben daarvoor in 2002 de Nobelprijs voor de Geneeskunde ontvangen. In de rest van mijn oratie zal ik celdood als een eindpunt van geneesmiddeltoxiciteit bespreken. Ik wil hier direct benadrukken dat celdood zeker niet bij alle vormen van geneesmiddeltoxiciteit een rol speelt. Ik verwijs hier bijvoorbeeld naar het eerder genoemde curare. DNA-schade

veroorzaakt door antikankergeneesmiddelen, leidt tot celdood. Het principe van celdood is daarom uitermate geschikt om conceptueel aan u duidelijk te maken welke processen er in de cel plaatsvinden na schade, en wat we daarvan kunnen leren voor enerzijds de voorspelling van toxiciteit en anderzijds de behandeling van patiënten.

Ieder organisme, klein (zoals bacteriën) en groot (zoals wij mensen), functioneert en past zich aan zijn of haar situatie. Het betreft hier genetisch gedefinieerde vermogens om te reageren op versturende omstandigheden, maar ook vermogens om zich aan te passen en te overleven in zulke condities en een zekere gehechtheid te voelen in de leefomgeving. Soms gaat dat fout en ontspoot het individu, met alle kwalijke gevolgen van dien. Ik heb het hier over blootstelling, aanpassing, hechting en onthechting van individuen. Een cel lijkt niet veel anders te reageren en te functioneren. *Blootstelling* aan veranderde omstandigheden, *aanpassing* aan die verandering, en *hechting* of *onthechting* van de cel. Oftewel de cellulaire ‘psychologie’, daar gaan we het verder over hebben, in de context van kankerontwikkeling, progressie en therapie.

### **Toxische blootstelling van cellen: van veilig naar onveilig.**

Het lichaam van een volwassen mens bevat ongeveer 50 triljoen cellen, een 5 met 13 nullen. Een maatschappij op zichzelf waarbij iedereen goed met elkaar moet communiceren om het volledige organisme in balans te houden. SAMEN WERKEN, SAMEN LEVEN. Stel deze ruimte in het Poortgebouw is een cel op een schaal van 1,000,000 staat tot 1, het omgekeerde dus van een wegenatlas. Als ieder mens op deze wereld in zo’n Poortgebouw-cel woont, dan vormen al die Poortgebouw-

cellen op de hele wereld op *die* schaal slechts een deel van de menselijke lever. In een organisme moeten al die cellulaire optrekjes bij elkaar goed georganiseerd zijn om niet te ontsporen. Ons erfelijk materiaal, het DNA, bepaalt hoe deze optrekjes eruit zien en hoe ze functioneren. Beschadiging van DNA in gezonde cellen kan het optrekje aardig verstoren en onder andere leiden tot kanker. Uiterst belangrijk dus dat DNA in gezonde cellen niet beschadigd wordt, en als het beschadigd raakt direct efficiënt hersteld wordt. Veel antikankergeneesmiddelen reageren direct of indirect met DNA. Om u voor te stellen hoe een cel zich voelt na te veel aan DNA-beschadigend antikankergeneesmiddel wil ik met u een test doen.

We zitten hier met z'n allen in deze Poortgebouw-cel. Het lijkt erop alsof u zich als een DNA streng hebt gerangschikt. U was hier vast al op voorbereid. U speelt nu met z'n allen DNA. Op uw stoel hebt u een gekleurd vel papier gevonden. Neem dat in u hand. Hoog boven u is het dak goed dicht. We gaan nu DNA-schade induceren. Het water komt op verschillende manieren naar beneden: druppels, kleine hagel, mega hagel. Wanneer u zich straks niet meer veilig voelt als DNA steekt u het gekleurde vel in de lucht. Buiten regent het pijpenstelen. Het dak blijkt niet helemaal waterdicht en hier en daar sijpelt er wat water door, dat op het DNA terecht komt. Als u zich niet veilig voelt dan dient u nu het gekleurde vel omhoog te houden? ... Het begint vervolgens te onweren met stevige doch kleine hagel. Sommige hagel gaat direct door het dak en slaat neer op het DNA. Hoe voelt het DNA zich, niet meer veilig?... Het dak vliegt eraf. Er knallen grote stukken hagel met een grotere vaart direct neer op het DNA. Is iedereen nu nog veilig of absoluut niet meer?

Dank u wel. U hebt nu zelf ondervonden of een cel zich veilig of onveilig voelt na een flinke antikankergeneesmiddel-hagelbui. Dat is geen pretje. Van cellulaire stress is dan ook zeker sprake. Bij ernstige schade aan het DNA zal een cel hoogstwaarschijnlijk de moeite niet meer nemen om zichzelf te beschermen. Hij geeft het op en pleegt ten gunste van het organisme zelfmoord; beter een dode cel dan een cel die aanleiding geeft tot kanker. Echter bij milde DNA-schade zal de cel het DNA herstellen en vervolgens door blijven leven, of bij foutief herstel weliswaar niet doodgaan maar ten gevolge van genetische mutaties kunnen uitmonden in kanker.

### Signaleren van schade: aanzetten tot een reactie.

Toen u DNA speelde en de ernst van de hagel onderkende deed u dat met uw ratio of intuïtie. Natuurlijk kunnen cellen niet actief denken of voelen en moeten er andere mechanismen in het spel zijn om deze schaderespons te vertalen naar een uiteindelijk biologisch effect in de cel.

Wij met onze zintuigen reageren als volledig individu (in)direct via onze hersenen op onze omgeving. Voor cellen is dat niet anders. Ook cellen hebben 'zintuigen' die waarnemen en informatie doorgeven, opdat er uiteindelijk een biologische reactie optreedt. Dit overdragen van informatie in de cel wordt in de celbiologie signaaltransductie genoemd. Deze overdracht van signalen gaat over het algemeen van mond tot mond, oftewel eiwit A raakt eiwit B en geeft tegelijk een kus van herkenning door het eiwit te labelen met een vlaggetje, ook wel modificatie genoemd. Een van de belangrijkste modificaties is het labelen met een fosfaatgroep (afgekort een P zoals op uw A4tje). Deze fosforyleringslabeling zorgt voor een activering of juist een inactivering van eiwitten. Er zijn ook andere modificaties mogelijk: ubiquitineren (de U) en sumoylering (de S).

Eiwitfosforylering is een van de meest belangrijke modificaties van eiwitten. In een cel ontstaat er na een trigger van buiten een cascade aan gebeurtenissen die signalen doorgeeft: dit is de signaaltransductie. Bijvoorbeeld na de enorme hagelbui van zojuist worden eerst de blauwe eiwitten geactiveerd (links van mij), die activeren vervolgens de gele eiwitten (in het midden). En uiteindelijk worden de rode eiwitten geactiveerd (rechts van mij).

In het echt is het veel complexer. We hebben in een cel niet te maken met 3 eiwitten, maar met ongeveer 15.000 verschillende. Al deze eiwitten kunnen en moeten op de juiste manier geactiveerd kunnen worden als er bepaalde signalen van buiten komen. Maar ook moeten deze eiwitten weer geïnactiveerd worden op het moment dat de signalen verdwenen zijn. Deze balans vraagt om een nauwkeurige regulatie. Voor fosforylering (de P) van eiwitten betekent dit dat er fosfaat-plakkers moeten zijn (de proteïnekinasen) maar ook fosfaat-gummers (de proteïnefosfatasen). In een menselijke cel zijn er in totaal meer dan 500 verschillende proteïne kinasen, die allemaal op hun eigen manier geactiveerd en gereguleerd worden.<sup>3,4</sup> Na een aanzienlijke celschade worden de zogenaamde stress kinasen geactiveerd. Zij herkennen als het ware de schade die aan de cel is opgetreden. Als er schade aan het DNA optreedt moet dat herkend worden. Er zijn dan ook kinasen bekend die worden aangeschakeld als er DNA-schade is veroorzaakt, waaronder ATM en ATR. Deze kinasen zetten vervolgens een scala van gebeurtenissen in gang middels signaaltransductieroutes die er voor zorgen dat cellen niet meer delen, dat het DNA hersteld gaat worden, of wanneer de schade te ernstig is, dat de cel zichzelf aanzet tot zelfmoord, de al eerder genoemde apoptosis.

De kinasen ATM en ATR zijn slechts 2 van de 500 kinasen die

mogelijk op stress reageren. Blijven er 498 over. Van veel van deze kinasen is bekend wat hun functie is; echter voor lang niet al deze kinasen is hun rol in de respons op DNA of andere cellulaire schade bekend. Een van onze doelen voor de komende jaren is om uit te zoeken wat de rol is van elk van deze meer dan 500 kinasen in DNA-schade-gerelateerde responsen. We hopen op die manier kinasen te vinden die betrokken zijn bij de inductie van apoptotische celdood door DNA-schade, of juist kinasen die beschermend werken om cellen langer in leven te laten na DNA-schade. Deze kinasen kunnen dan uiteindelijk een rol spelen bij het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen die deze kinasen remmen dan wel activeren om op die manier cellen te beschermen tegen DNA-schade. Of dat nieuwe stoffen juist (resistente) tumorcellen gevoeliger maken om dood te gaan na behandeling met bestaande antikankergeneesmiddelen.

### Verandering van genexpressie: aanpassen geblazen!

Hoe zit het nu met het intrinsieke cellulaire aanpassingsvermogen? Kinasen en fosfatasen reguleren de activiteit van eiwitten in een cel, waaronder die van transcriptiefactoren. Transcriptiefactoren zijn zogenaamde boodschappers die de expressie van genen beïnvloeden en daardoor uiteindelijk de cellulaire functie reguleren. Wanneer de kinasen in de cel zijn geactiveerd door de DNA-schade (de hagelbui) dan worden bepaalde transcriptie factoren actief. De factoren binden aan specifieke genen en activeren of inhiberen hun expressie. Dit zijn bijvoorbeeld genen die een rol spelen bij het herstel van de DNA-schade. Of juist genen die de celdood in gang zetten.

Het humane genoom bevat ongeveer 25.000 verschillende genen.<sup>5,6</sup> Hiervan komen er waarschijnlijk ongeveer 15.000 tot expressie in een bepaalde lichaamscel. Op het moment dat er



DNA-schade optreedt, zal dat leiden tot een veranderde activering van transcriptiefactoren die leidt tot een veranderde regulering van de expressie van genen. Binnen een academisch samenwerkingsverband bestuderen we welke genen allemaal na DNA-schade veranderen. En welke van deze genen specifiek veranderen door uitsluitend DNA-schade en niet door andere vormen van cellulaire schade. Waarom is dat relevant zult u zich af vragen.

Allereerst kunnen we op die manier een set van genen identificeren die als een soort verknikker fungeren om nieuwe chemische stoffen, waaronder geneesmiddelen, te classificeren als veilig of onveilig m.b.t. het veroorzaken van DNA-schade. De expressie van alle genen kunnen we in kaart brengen met zogenaamde DNA-chips. Aan de hand van de profilering van de expressie van genen in combinatie met geavanceerde bioinformaticaanalyse kan uiteindelijk een zogenaamd 'genexpressieprofiel' worden gegenereerd voor een grote variatie aan farmacologisch actieve stoffen. Wij bestuderen met name de genexpressie na behandeling met DNA-beschadigende stoffen. Na schade aan het DNA verandert de expressie van ongeveer 3.000 genen. Vergelijking van het profiel van verschillende DNA-beschadigende verbindingen ten opzichte van verbindingen die op een andere manier de cel verstoren, heeft ons een reeks van genen opgeleverd die specifiek veranderen na DNA-schade.<sup>7</sup> Ons vervolgonderzoek is erop gericht om deze genen vervolgens te gebruiken als verknikker. We kunnen dan potentiële toxiciteit van stoffen gaan voorspellen. Als dat in een vroeg stadium van geneesmiddelontwikkeling gebeurt, dan kunnen de goede van de kwade stoffen worden gescheiden.

Ten tweede kunnen de veranderde genen ons fundamentele kennis opleveren over hoe cellen met DNA-schade omgaan. We leren welke routes uiteindelijk besluiten of een cel blijft

overleven met of zonder foutloos herstel van DNA-schade, en hoe dat kan bijdragen aan het ontwikkelen van kanker. Daarnaast kunnen sommige van deze genen in resistente tumorcellen niet meer goed omhoog of omlaag gaan na juist een bewuste DNA-beschadigende antikankertherapie, zodat de cel uiteindelijk niet dood gaat. Dit kan ons iets leren over de moleculaire mechanismen van resistentie van tumorcellen tegen antikankergeneesmiddelen.

### Een systeemtoxicologische benadering.

Resumerend, het ging om de genen, de verandering van de expressie van de genen, vervolgens de aanmaak van eiwitten, en de modificatie van de eiwitten door onder andere fosforylering, uiteindelijk uitmondend in aanpassing van een biologisch proces. Om te kijken naar al deze facetten heb je ten eerste een flink aantal hoogwaardige en kostbare technologieën nodig en natuurlijk ook personeel. Dat kost geld, veel geld. Samenwerking binnen grote private/publieke consortia is hier het toverwoord om voldoende geld bij elkaar te brengen. Met betrekking tot de genexpressieprofilering doen we dit dus om verknikkergenen te identificeren die kankerverwekkende activiteit van stoffen kunnen voorspellen. Door celbiologen, moleculair biologen, genetici en bio-informatici bij elkaar te brengen hebben we een uitstekende uitgangspositie gecreëerd om dit voor elkaar te boksen. Vergelijking van *in vitro* experimenten met cellen in een kweekbakje met observaties in het proefdier *in vivo*, zijn daarbij essentieel. De aansluiting van dit consortium bij het Netherlands Toxicogenomics Center zal ons, naar alle waarschijnlijkheid, in staat stellen om de relaties tussen genexpressie (genomics) en eiwitexpressie en eiwitmodificaties (proteomics) vast te stellen. Ik wil hier met klem benadrukken dat het analyseren van de relatie tussen gen expressie en daadwerkelijke biologische functie (functional

genomics), ook uiterst belangrijk is. Deze integratie is typisch een systeembioologische benadering, in dit geval dus systeem toxicologie. We proberen zo goed mogelijk te begrijpen hoe de hele cel als totaal systeem reageert op chemische stoffen. Wat is de relatie tussen kinase-activiteit en genexpressie? Welke van deze genen, c.q. eiwitten, zijn betrokken bij toxiciteit? Is er ook fosforylering van deze eiwitten door de kinasen? Samen hopen we een groot gedeelte van deze vragen te beantwoorden.

Er ligt hier voor toxicologen nu een unieke kans en belangrijke taak. Toxicologen hebben van huis uit een gedegen kennis van toxische blootstelling en bijbehorende pathologie. Door mede gebruik te maken van hierboven genoemde - omics technologieën moeten toekomstige toxicologen en drug safety scientists in plaats van beschrijvende wetenschappers tot een klasse apart worden, die, vanuit zowel een breder als diepere moleculaire en cellulaire onderbouwing, begrijpen wat chemische stoffen, waaronder geneesmiddelen, doen met een biologisch systeem. Zulke kennis zal ook bijdragen aan het beter begrijpen van de moleculaire mechanismen van het ontstaan van ziekten waarbij cellulaire schade en celdood een rol spelen. Het is mijn mening dat een moleculair en celbiologisch onderlegde toxicoloog/drug safety scientist met een cellulair 'systeempsiologisch' inzicht, goud waard is. Of op z'n minst zilver.

### **Van hechting naar onthechting en weer terug.**

We hebben het gehad over de manier waarop DNA-beschadigende antikankergeneesmiddelen inwerken op de cel en hoe we dat kunnen en willen analyseren aan de hand van een systeemtoxicologische benadering op cellulair niveau. Dit had met name te maken met hoe cellen omgaan met chemische blootstelling en hoe zij zich aanpassen. De vraag die

nog blijft liggen is hoe dat nu met die hechting en onthechting zit. Is de cellulaire 'psychologie' hier ook van toepassing?

Ieder mens voelt zich meer of minder gekoesterd in een bepaalde leefomgeving of cultuur. Hoe prettiger de omgeving hoe beter de hechting. Dat is voor cellen niet anders. Ook zij voelen zich 'thuis' in de voor hen optimale niche. Voor een levercel is dat de lever en voor een neuronale cel de hersenen; wie had dat anders gedacht. De juiste cellulaire context bepaalt overleving, differentiatie en functie van cellen en wordt gereguleerd door de aanwezigheid van de juiste groeifactoren, maar ook celadhesie. Loskomen uit de fysieke en (bio)chemisch perfecte niche is niet in het voordeel van een gespecialiseerde cel en wordt over het algemeen gevolgd door het ondergaan van celdood, ook wel *anoikis* genoemd. Dit betekent letterlijk zonder huis of dakloos. En u kunt zich voorstellen dat het verliezen van een huis geen sinecure is. Voorlopig handen af van de hypotheekrenteaftrek.

Cellulaire onthechting treedt met name op bij de progressie van tumoren tot een kwaadaardig type kanker. Normale cellen ontvangen continu signalen van de omgeving om in leven te blijven en raken gehecht, letterlijk en figuurlijk. Verlies van hechting is niet goed voor cellen. Maar wat zijn de consequenties van deze onthechting? Onthechting van individuen kan aanleiding zijn tot ernstige maatschappelijke of psychische ontsporingen. Onthechting van cellen komt met name voor bij tumorcellen.<sup>8</sup> Geldt voor normale cellen dat ze na verlies van hechting dood gaan, voor vergevorderde tumorcellen geldt dat ze zich niets aantrekken van verlies van hechting.<sup>9</sup> Deze cellen zijn feitelijk *prettig* onthecht. Het proces van hechting naar onthechting is een lang traject waarbij een accumulatie van genetische veranderingen gezamenlijk bijdragen aan de progressie van kanker. Alle genetische

veranderingen bij elkaar leiden ertoe dat de set van eiwitten die normaal gesproken een cel vertellen wanneer hij vastzit ja of nee, ontspoord is. De signaaltransductieroutes die normaal alleen aanstaan na hechting, staan nu altijd aan of gaan niet meer goed uit. Dit 'onthechttingsproces' leidt er toe dat een normale cel verandert in een agressieve tumorcel die zich niets meer aantrekt van zijn omgeving en kan uitzaaien naar andere plekken in het lichaam waar hij eigenlijk niet thuis hoort. Identificatie van de moleculaire veranderingen in de tumorcellen die verantwoordelijk zijn voor dit veranderde gedrag van deze cellen, zal bijdragen aan het vinden van nieuwe geneesmiddelen tegen kanker.

Hoe moet u zich voorstellen wat er anders is in de tumorcellen zodat er uitzaaiingen optreden? Laten we een laatste keer deze zaal als voorbeeld nemen. Nu is het geen gewone Poortgebouwcel maar een Poortgebouw-tumorcel. Als ik zo rondkijk lijkt het erop of bepaalde types verhoogd tot expressie komen. Deze in toga gehesen wijze dames en heren aan weerszijde van mij zijn in zwart gekleed en dat suggereert iets onheilspellends: het zijn de motors van de tumoruitzaaiing! Deze togagenen zullen proberen de Poortgebouw-tumorcel te laten overleven en te verplaatsen naar een andere plek. Om ongewenste verplaatsing en overleving van deze Poortgebouw-tumorcel te stoppen moeten we deze togagenen specifiek uitschakelen. Hoe kunnen we dat met therapie bewerkstelligen? Voornamelijk gebeurt dat nog door het toepassen van niet echt selectieve methoden. De meest gebruikte antikankertherapieën waarbij cytostatica worden gebruikt, beschadigen op niet-specifieke wijze het DNA, met ernstige bijwerkingen als gevolg. Wij worden allemaal aangepakt. Het zou toch een stuk charmanter zijn als hier een paar dienders kwamen binnenlopen die geruisloos specifiek deze togatypes kwamen ophalen.

Binnen het kankeronderzoek is men naarstig op zoek naar eiwitten die centraal staan in het uitzaaiingsgedrag van tumorcellen; zo ook onze onderzoeksgroep. Verschillende eiwitten zijn geïdentificeerd die cruciaal zijn in deze processen en die ook gerelateerd zijn met verslechterde prognose van verschillende typen humane kanker. Tegen sommigen van deze eiwitten, waaronder de epidermale groeifactor (EGF) receptor en zijn broertje ErbB2, zijn reeds geneesmiddelen op de markt gekomen die gebruikt worden tegen o.a. vormen van longkanker en borstkanker.<sup>10,11</sup> Het gebruik van deze geneesmiddelen draagt bij aan een langere overleving van de patiënten, en, zeker ook niet onbelangrijk, minder ernstige bijwerkingen zoals die worden waargenomen bij de meer klassieke antikankergeneesmiddelen. Helemaal veilig zijn ze echter niet. De anti-groeifactorreceptormiddelen geven soms ernstige huid- en harttoxiciteit waarvan het mechanisme nog niet is opgehelderd.<sup>12,13</sup> Aangezien veel van de nieuwe proteïnekinasetargets ook in specifieke normale fysiologische processen een rol spelen, zullen hoogstwaarschijnlijk nieuwe typen toxiciteit optreden bij deze zogenaamde 'molecular targeted therapies'. Werk aan de winkel voor de *drug safety scientist* hoor ik u denken.

De zoektocht naar nieuwe targets tegen kanker en het volledig begrijpen van deze targets is nog steeds in volle gang. Wij doen onderzoek naar de rol van het eiwit focal adhesion kinase, afgekort F.A.K. of FAK, in de ontwikkeling en progressie van kanker. In verschillende typen kanker is een verhoogde expressie van dit kinase geassocieerd met een versneld optreden van uitzaaiingen en een verminderde overleving van de patiënt.<sup>14,15</sup> FAK activatie is betrokken bij verschillende celbiologische processen die essentieel zijn bij kanker, waaronder celoverleving, proliferatie en migratie. Het succes

en de efficiëntie van deze processen is bepalend voor het tot stand komen van uitzaaiingen.

Ons onderzoek heeft aangetoond dat remming van de functie van FAK de vorming van uitzaaiingen van borsttumoren voorkomt.<sup>16</sup> Bovendien toonden we aan dat wanneer we FAK remmen, tumoren gevoeliger zijn voor behandeling met klassieke antikanker geneesmiddelen.<sup>17</sup> Dit suggereert dat remming van FAK zowel gebruikt zou kunnen worden om uitzaaiingen te voorkomen als ook om resistentie tegen antikanker geneesmiddelen te verminderen. Gebruik van selectieve FAK remmers zou dus klinisch relevant kunnen zijn. Toekomstig onderzoek zal moeten uitwijzen of zulke remmers van FAK allereerst in proefdieren succesvol zijn voor de behandeling van kanker, hetzij alleen of in combinatie met andere antikanker geneesmiddelen. Aangezien FAK functioneel is in veel verschillende cellen, is een belangrijke vraag of selectieve farmacologische remming van FAK veilig is. Zie hier weer het grensvlak tussen celbiologie, farmacologie en toxicologie.

Rest ons nu de HOE vraag. HOE doet FAK het? We gaan eerst het bewegingsgedrag van tumorcellen moleculair ontrafelen. Daarna zullen we interessante genen die mogelijk uitzaaiingen bevorderen verder bestuderen in borstkankermodellen. Daartoe maken we gebruik van zogenaamde ‘intravital imaging’ in combinatie met ‘bioluminescentie imaging’. Hiermee kunnen we migratie van de tumorcellen *in vivo* registreren en metastasevorming kwantificeren. Dit klinkt allemaal ingewikkeld. En dat is het ook. Bij deze nodig ik u dan ook uit om het lab een keer te bezoeken; maar AUB niet allemaal tegelijk. De routes die bijdragen aan het onthechtingsfenotype van de tumorcellen hopen we op die

manier kort te sluiten. Van fundamenteel begrip naar geneesmiddel. Van onthechting naar hechting.

## Wetenschap en de kenniseconomie.

Het genereren van fundamentele kennis in het wetenschapsbedrijf is een mooi vak. Kennis vergaren wordt echter steeds meer in dienst gesteld van economische belangen. Nederland als kennisland moet meer naar Nederland als kenniseconomieland. Als wetenschappers worden we geacht de kenniseconomie te eren; in het bijzonder innov-eren en vervolgens valoris-eren. In het nieuwe regeerakkoord staat: “*De samenwerking tussen universiteiten, hogescholen, kenniscentra en het bedrijfsleven moet verder verbeterd worden.*” De al eerder aangehaalde publiek/private consortia lijken in Nederland dus steeds belangrijker te worden. Op farma gebied is dat reeds gebeurd door het oprichten van het Top Instituut Pharma. Andere initiatieven zoals Smartmix en soortgelijke stuwen het publiek/private onderzoek, of eigenlijk het privaat gedreven publieke onderzoek, verder op. Er dreigt een gevaar dat het fundamentele onderzoek in de knel komt. Dit onderzoek is juist uiterst belangrijk om op lange termijn innovatie en valorisatie blijvend mogelijk te maken. Te veel wetenschappers die voornamelijk toepassingsgericht (kunnen) denken kan een zwakte betekenen voor Nederland kennisland. Ik spreek mijn zorg uit dat een gezonde verhouding tussen zuiver fundamenteel en publiek/privaat onderzoek aanzienlijk in het gedrang komt en pleit er dan ook voor dat onderzoeksinstituten, faculteitsbesturen en College van Bestuur, de fundamentele kaas niet van het brood van de onderzoekers laten eten, en ook zelf meer risicodragend gaan investeren in enerzijds 1<sup>STE</sup> en 2<sup>DE</sup> geldstroom onderzoek en anderzijds een uitdagend onderzoeksklimaat en optimale voorzieningen. De extra investeringen die de rijksoverheid wil doen in kennis-NL van

slechts 75 miljoen Euro in 2008 tot structureel 300 miljoen Euro in 2011 zal zeker niet toereikend zijn.

Nederland kennisland, kenniseconomieland, innovatieland of valorisatieland. Daar heb je hoe dan ook adequaat personeel voor nodig. Nederland, en de Universiteit Leiden in het bijzonder, *Koerst op kwaliteit* en *Kiest voor talent*. Dat zijn korte statements die soms tegenstrijdig zijn met de werkelijkheid. Bij een gelijkblijvende kennisoverdracht in het eigen onderwijs bemerk ik de afgelopen jaren dalende scores voor tentamens. Als we werkelijk met z'n allen aan de hierboven genoemde beloften willen voldoen moet er (wellicht met meer lef) geïnvesteerd en geherstructureerd worden in zowel het VWO als ook de universitaire opleiding. Blij was ik te horen dat onze nieuwe minister van onderwijs, zelf een internationaal gerenommeerde wetenschapper, “...*de kwaliteit van het onderwijs wil verbeteren*...”. Er moet (weer) ruimte zijn om te excelleren. Dit moeten we stimuleren, te beginnen op de middelbare onderwijs waar door het studiehuis een generatie de koers richting inhoudelijke kwaliteit lijkt te verliezen. Tegelijkertijd hebben wij als wetenschappers de plicht de studenten tot het uiterste te prikkelen om hun talenten te laten ontdekken en te leren gebruiken. Investeren in *blootstelling* aan excellent onderwijs en onderzoek, *aanpassing* aan een omgeving waar complexe gegevens verwerkt worden, en zorgen voor een optimale *hechting* in een nationaal wetenschappelijk uitdagend klimaat. Alleen op die manier kunnen we NL kennisland in de toekomst op sterkte houden.

### Een woord van dank.

Mijn oratie wil ik afsluiten met een woord van dank. Allereerst wil ik mijn waardering uitspreken voor het in mij gestelde vertrouwen door allen die aan de totstandkoming van mijn

benoeming hebben bijgedragen. Ik noem hier het College van Bestuur, het faculteitsbestuur, en de leden van de benoemingscommissie, in het bijzonder hooggeleerde collega Danhof.

Zonder personen bewust uit te sluiten wil ik daarnaast een aantal mensen specifiek noemen die hebben bijgedragen aan mijn wetenschappelijke ontwikkeling.

Hooggeleerde Mulder en zeergeleerde Nagelkerke. Beste Gerard en Fred, dankzij het stimuleren (en waar nodig sturen) van mijn talenten in mijn jonge jaren en tegelijkertijd het vrijlaten van mijn creatieve geest in de meer recente periode, heb ik de ruimte gekregen om de sectie Toxicologie uit te bouwen naar eigen inzichten.

Dr. Stevens, dear Jim, I will remember the stimulating scientific discussions and special friendship we had during my postdoc period in Lake Placid, as a crucial period in my academic career and personal life. It has been a driving force in my development as a scientist.

Zeergeleerde Vrieling en hooggeleerde Mullenders. Beste Harry en Beste Leon, de afgelopen vijf jaar zijn we gezamenlijk het pad opgegaan van de toxicogenomics en-wat-al-niet-meer-zij. Jullie enthousiasme, wetenschappelijke betrokkenheid maar ook jullie menselijkheid bieden een uitstekende match voor een goede en tevens leuke samenwerking. Ook Prof. van Steeg (Harry), Dr. van der Horst (Bert) en dr. Breit (Timo), wil ik in dit verband concreet noemen.

Alle mensen van het eerste uur, in het bijzonder noem ik waarde collega Ine Tijdens. Maar ook alle promovendi,

postdocs en stagiaires die de afgelopen jaren veel tijd en moeite hebben gestoken in het opzetten van nieuwe modellen en genereren en valideren van nieuwe ideeën. Zonder jullie tomeloze inzet had mijn pad er niet zo rooskleurig uitgezien.

Studenten van de Bio-Farmaceutische Wetenschappen, hier vertegenwoordigd door studievereniging Aesculapius. Jullie zijn de toekomst voor kennislab Toxicologie en kennisland-NL. Ik zal me ten volle inzetten om jullie het uitdagende onderwijs te geven dat jullie nodig hebben en verdienen.

Alle vrienden en familie die de afgelopen jaren interesse hebben getoond in het wel en wee van mijn onderzoek, ook wanneer het door te hard werken soms even wat tegenzat: bijzonder veel dank!

Lieve Arie (en ook wijlen lieve Cock). Daar waar nog twijfels waren over dat te vaak buitenspelende kleutertje, is nu toch het tegendeel een klein beetje bewezen. Zonder jullie stimulans en interesse was ik nu misschien nog steeds een straatschooier.

Lieve Floor en Lieve Sas, jullie zijn twee fantastische meiden die ieder op hun eigen aparte manier dat harde werken van Bobbieboy gelukkig vaak genoeg met een korreltje zout nemen en becommentariëren. Dat moeten jullie vooral blijven doen.

Mijn allerliefste, Lies, al meer dan twintig jaar mijn liefde, maatje, maar ook steun en toeverlaat, ik ben jou het meest dankbaar van iedereen. Woorden schieten te kort.

Ik heb gezegd.

## Referenties

- 1 Mamdani M, Juurlink DN, Lee DS, Rochon PA, Kopp A, Naglie G, Austin PC, Laupacis A, Stukel TA. (2004) Cyclo-oxygenase-2 inhibitors versus non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs and congestive heart failure outcomes in elderly patients: a population-based cohort study. *Lancet* 363: 1751-1756.
- 2 Van der Hooft CS, Sturkenboom MC, van Grootheest K, Kingma HJ, Stricker. (2006) Adverse drug reaction-related hospitalisations: a nationwide study in The Netherlands. *Drug Safety* 29: 161-168.
- 3 Manning G, Whyte DB, Martinez R, Hunter T, Sudarsanam S. (2002) The protein kinase complement of the human genome. *Science* 298: 1912-1934.
- 4 Johnson SA, Hunter T. (2005) Kinomics: methods for deciphering the kinome. *Nature Methods* 2: 17-25.
- 5 International Human Genome Sequencing Consortium. (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921.
- 6 Venter JC *et al.* (2001) The sequence of the human genome. *Science* 291:1304-1351.
- 7 Kruse JJ, Svensson JP, Huigsloot M, Giphart-Gassler M, Schoonen WG, Polman E, Jean Horbach G, van de Water B, Vrieling H. (2007) A portrait of cisplatin-induced transcriptional changes in mouse embryonic stem cells reveals a dominant p53-like response. *Mutation Research* 617: 58-70.
- 8 Hood JD, Cheresh DA. (2002) Role of integrins in cell invasion and migration. *Nature Reviews Cancer* 2: 91-100.
- 9 Mehlen P, Puisieux A. (2006) Metastasis: a question of life or death. *Nature Reviews Cancer* 6:449-458.
- 10 Herbst RS, Fukuoka M, Baselga J. (2004) Gefitinib - a novel targeted approach to treating cancer. *Nature Reviews Cancer* 4: 956-965.
- 11 Adams GP, Weiner LM. (2005) Monoclonal antibody therapy of cancer. *Nature Biotechnology* 23: 1147-1157.
- 12 Lacouture ME. (2006) Mechanisms of cutaneous toxicities to EGFR inhibitors. *Nature Reviews Cancer* 6: 803-812.
- 13 Force T, Krause DS, Van Etten RA. (2007) Molecular mechanisms of imatinib resistance in chronic myeloid leukaemia. *Nature Reviews Cancer* 7: 87-98.

In deze reeks verschijnen teksten van oraties en afscheidscolleges.

Meer informatie over Leidsa hooelann  
Leidswetenschappers

Leidswetenschappers.Leidenuniv.nl

## PROF.DR. B. VAN DE WATER



- 1985 Propadeuse Biologie aan de Universiteit Leiden
- 1990 Doctoraaldiploma Bio-Farmaceutische Wetenschappen aan de Universiteit Leiden
- 1990-1995 Promotieonderzoek Sectie Toxicologie van het Leiden/Amsterdam Center for Drug Research (LACDR) aan de Universiteit Leiden.
- 1995-1997 Postdoc aan het W. Alton Jones Cell Science Center te Lake Placid in de Verenigde Staten.
- 1997-2000 NWO postdoc fellow bij de sectie Toxicologie/LACDR
- 2000-2005 KNAW fellow bij de sectie Toxicologie/LACDR
- 2002-2006 Plaatsvervangend hoofd sectie Toxicologie/LACDR
- 2006-heden Hoogleraar Drug Safety Sciences en hoofd sectie Toxicologie/LACDR

Van de Waters wetenschappelijke interesse ligt op het gebied van moleculaire mechanismen van cytotoxiciteit. Met een systeembioologische benadering wordt er naar de biologische processen in de cel gekeken na celschade. Hiertoe worden genexpressie profilering, fosfo-proteomics en functionele genomics-technieken naast elkaar toegepast. Een centraal thema is de controle van signaaltransductie door celadhesiestructuren, in het bijzonder de contacten tussen cellen, en tussen cellen en de matrix. Deze studies geven fundamenteel inzicht in de gevolgen van cellulaire stresscondities op celadhesie, migratie, differentiatie en op overleving in de context van zowel geneesmiddelgeïnduceerde acute weefselschade en herstel, als de behandeling van kanker.



Universiteit Leiden