

DNA schade in netwerken gevangen

Rede uitgesproken door

Prof.dr. Leon H.F. Mullenders

bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar
in de toxicogenetica
aan de Universiteit van Leiden
op vrijdag 17 september 2004

Mijnheer de Rector Magnificus,

Zeer gewaardeerde toehoorders.

De titel van mijn oratie is: DNA schade in netwerken gevangen.

De in de volksmond gebezigde uitdrukking ‘een tevreden roker is geen onruststoker’ is aan revisie toe. De tevreden roker heeft namelijk voor nogal wat onrust gezorgd bij het niet rokende deel van de bevolking. Meeroken, daar gaat het om, brengt risico's voor de gezondheid met zich mee. Je hebt als roker geen wettelijk recht op rookruimte op je werk en derhalve is roken steeds meer een ‘outdoor activiteit’ geworden. Maar, hoe groot zijn de gezondheidsrisico's voor bijvoorbeeld longkanker voor de meerroker? Een belangrijke, maar tevens moeilijk te beantwoorden vraag. Maar wel een vraag die het hart raakt van het vakgebied van de Toxicogenetica. Risicoschattingen hangen onder meer samen met hoe gegevens uit dierproeven naar de mens vertaald moeten worden; hoe te extrapoleren van onderzoeksgegevens verkregen bij hoge dosis naar lage dosis van dagelijkse blootstelling; met de mogelijkheid dat er bij lage niveaus van blootstelling geen meetbare risico's zijn, met epidemiologische gegevens, en tenslotte met het feit dat het gezondheidsrisico niet voor iedere persoon hetzelfde is.

Roken van tabak leidt tot blootstelling aan een complex mengsel van chemische stoffen, waarvoor een duidelijke relatie is vastgesteld met ziekte, met name longkanker. Een bij het publiek bekende relatie, zelfs bij beleggers. Want in 1996 deden resultaten van een studie naar de relatie tussen roken en kanker in het gezaghebbende tijdschrift Science de fondsen van tabaksfabrikanten zoals Philip Morris op de New Yorkse beurs kelderden. We hebben een goed inzicht in de oorzaken die aan door roken veroorzaakte kanker ten grondslag liggen. Niet goed begrepen is het feit dat het risico van met roken geassocieerde ziekten niet voor ieder individu hetzelfde is. Feitelijk haalt de gemiddelde roker opgelucht adem, als ik me zo mag uitdrukken, bij de gedachte dat het merendeel van de rokers geen longkanker krijgt.

Dat de gezondheidsrisico's per individu na blootstelling sterk verschillen, is niet uniek voor tabak. Ik geef U een ander voorbeeld: blootstelling aan de kankerverwekkende stof arseen via drinkwater in het Andes gebied in Zuid-Amerika leidt tot verhoogd risico op kanker bij de nazaten van de Spaanse veroveraars, maar veel minder bij de lokale Indiaanse bevolking. Juist, zult U denken, God's straf voor Spaanse ongerechtigheden in het verleden!... Of, is er een ander dan het goddelijke mechanisme? Inderdaad, er blijkt sprake te zijn van een opmerkelijke vorm van aanpassing: de Indiaanse bevolking blijkt arseen op unieke wijze buitengewoon efficiënt uit het lichaam te verwijderen.

Wat bepaalt of iemand gezondheidsproblemen krijgt na blootstelling? Zeer zeker de mate van blootstelling, hoe meer pakjes sigaretten, hoe groter de kans op ziekte. Maar schijnbaar ook het toeval, want, zoals gezegd, niet iedere roker wordt ziek. Het verhaal

over arseen maakt echter duidelijk dat het toeval beïnvloedbaar is door de mate van verdediging tegen het lichamelijke ongerief. Gezondheidsrisico's ten gevolge van blootstelling aan stoffen en straling kunnen we dus veel beter inschatten als we weten hoe chemische stoffen en straling hun effecten in cellen, weefsels en lichaam bewerkstelligen. Ik hoop U in deze openbare les ervan te overtuigen dat nieuwe wetenschappelijke benaderingen aangeduid met de Engelse term 'toxicogenomics', ons inzicht in hoe stoffen en straling in organismen werken, aanzienlijk zullen verbeteren. Derhalve mogelijkheden bieden om risico's beter te kunnen inschatten.

In mijn vakgebied, de Toxicogenetica, bestuderen we de interacties van chemische stoffen en straling met de drager van de erfelijke informatie, het DNA alsmede de hierdoor veroorzaakte nadelige effecten voor de gezondheid zoals toxiciteit, genetische veranderingen en ziekten zoals kanker. Tabaksrook bevat stoffen die in staat zijn met de bouwstenen van het DNA, de DNA basen, te reageren en veranderingen aan te brengen die we eenvoudigweg DNA schade noemen. In algemene termen worden dergelijke stoffen genotoxische agentia genoemd. Mocht U denken dat Toxicogenetica alleen voor rokers en arseen-drinkers relevant is, dan heeft U het mis. Met genotoxische agentia komen we allen in aanraking. Enerzijds, omdat ze een onvermijdelijk onderdeel van ons leefmilieu zijn. Van een zonnig dagje strand met een bezoek aan de frituurtent neemt U heel wat souvenirs mee in de vorm van DNA schade. Dit als gevolg van ultraviolette straling in zonlicht en bestanddelen in de gefrituurde vleeskroket. Anderzijds moet U bedenken dat Uw eigen lichaam ook niet vrijuit gaat: in onze lichaamscellen wordt als onderdeel van normale scheikundige processen voortdurend DNA schade gevormd. En met aanzienlijke frequenties. Thomas Lindahl schat bijvoorbeeld het spontaan verlies van DNA basen op 10.000 gebeurtenissen per dag per cel. Als u weet dat ons lichaam uit zo'n 100 biljoen cellen is opgebouwd (een 1 met 14 nullen), dan beseft U direct met welk een enorme hoeveelheid DNA schade ons lichaam dagelijks wordt opgezadeld. Overigens, welke DNA schade nu het meest bedreigend is voor de mens en de relatieve bijdragen vanuit leefomgeving en eigen lichaam, zijn nog volop onderwerp van discussie. Desalniettemin slikt menigeen, van huisvrouw tot Nobel prijswinnaar, gretig vitaminetabletjes, wortel extract of andere zoete sappen om de DNA schade te reduceren. Vooralsnog zijn de resultaten van 41 interventiestudies met deze zogenaamde antioxidanten tamelijk zuur, er is nauwelijks effect.

DNA schade vormt een bedreiging voor de gezondheid van ieder organisme en wel om twee redenen. Ten eerste, worden processen die noodzakelijk zijn om cellen goed te laten functioneren, door DNA schade geblokkeerd. Met name geldt dit voor het kopiëren van het DNA en het overschrijven van informatie van het DNA in de vorm van RNA (een proces dat we genexpressie noemen). Vergelijk het effect van DNA schade met een omgewaarde boom op de rails die Uw dagelijkse stoptrein, de naam zegt het al, tot een extra stop noodzaakt. Het niet verwijderen van dergelijke blokka-

des is niet alleen desastreus voor de dienstregeling van de NS, maar ook voor de overleving van cel en organisme. Menig onderzoeker vermoedt dat ziekteverschijnselen zoals neurologische problemen ten gevolge van het afsterven van zenuwweefsel, dwerggroei en versnelde veroudering onder andere verband houden met blokkades van bovengenoemde processen door DNA schade. Maar om dichterbij huis te blijven, ook zonnebrand na een zonnig dagje strand hangt samen met door zonlicht opgeworpen blokkades in Uw rood verbrande huid.

De tweede reden waarom DNA schade een bedreiging vormt betreft delende cellen of weefsels. Zo'n 10% van onze lichaamscellen deelt regelmatig. Voorafgaand aan de celdeling wordt het DNA verdubbeld zodat de twee dochtercellen exact hetzelfde DNA meekrijgen als de moedercel. Bij verdubbeling van beschadigd DNA worden fouten gemaakt, die de dochtercellen opzadelen met veranderingen in hun genen (zogenaamde mutaties) en afwijkingen in chromosomen. Deze mutaties en chromosoomafwijkingen kunnen leiden tot verlies van belangrijke functies in de cel zoals de controle over de celgroei en vormen de basis voor ziekten zoals kanker en overerfbare afwijkingen.

Op dit moment, na mij 10 minuten te hebben aangehoord, heeft Uw lichaam 6000 biljoen DNA schades opgelopen, ca 60 per cel. Maar blijft U rustig zitten, geen paniek, Uw lichaamscellen zijn voorbereid op deze calamiteiten in en onder Uw huid. DNA schade leidt tot SOS signalen in de cel om verdedigingsystemen te activeren die essentieel zijn voor het handhaven van ongeschonden DNA. Defecten in deze systemen worden zichtbaar in zeldzame humane syndromen, vaak met complexe ziektebeelden zoals gevoeligheid voor zonlicht en röntgenstraling, groei en ontwikkelingsstoornissen, versnelde veroudering en predispositie voor kanker.

In de laatste drie decennia is ons begrip van de verdediging tegen DNA schade aangeduid als DNA schade respons, met grote sprongen vooruitgegaan. De drijvende kracht hierachter is het oude Griekse wetenschapsbeginsel 'weten om te weten', pure nieuwsgierigheid naar hoe de cel met DNA schade omgaat. De DNA schade respons kan beschouwd worden 'als eerste hulp bij DNA schade' en biedt daarbij op velerlei wijze hulp. Reparatie systemen worden geactiveerd om de DNA schade te verwijderen. Delende cellen maken pas op de plaats om te voorkomen dat er beschadigd DNA verdubbeld wordt. Er treedt een dramatische verandering in expressie van genen op; eiwitten, die betrokken zijn bij al deze processen, worden veranderd en krijgen nieuwe functies. Een crisiscentrum, bestaande uit een netwerk van speciale eiwitten, controleert de hulpverlening. Voilà: 'eerste hulp bij DNA schade' is verre van simpel; het is een complex geheel van reacties die samen tot doel hebben het vermogen van een organisme om DNA schade te overleven te verhogen.

De eerste stap in verdediging tegen DNA schade is gericht op het verwijderen van de DNA schade en herstel van het oorspronkelijke DNA. Voor deze taak is de cel met DNA reparatiesystemen toegerust. 30 jaar geleden werd reparatie van DNA schade als

cellulaire curiositeit in 10 minuten tijdens het college moleculaire biologie afgehandeld. Nu is reparatie van DNA schade een tophit in de wetenschappelijk wereld. Het belang van dit proces wordt duidelijk als U zich realiseert dat er meer dan 100 genen bij betrokken zijn. Vanaf de tweede helft van de 70-tiger jaren van de vorige eeuw zijn deze genen met name ook door Nederlandse laboratoria met succes geïdentificeerd.

Reparatie van DNA schade is geen sinecure voor de cel. Op de eerste plaats moet de cel de schade zien te vinden, een fascinerend probleem voor cel en onderzoekers. De cel moet bovendien in staat zijn een enkele DNA schade per vele miljoenen DNA basen op te sporen en te repareren.

Ik zal U de omvang van het probleem als volgt laten zien. Dit A4 blad bevat 3000 letters aan ieder zijde, totaal dus 6000 letters. Dit boek uit een encyclopedie bevat 500 bladzijden, ca 3 miljoen letters. De encyclopedie van ons leven omvat 1000 van deze boeken met een totaal van 3 miljard letters of in de taal van het DNA, 3 miljard DNA basen. Ergens ontbreken drie of vier letters, vergelijkbaar met een breuk in het DNA. Hoe vind je die plaats in duizend boeken met 500 bladzijden elk??

Studies in gistcellen hebben laten zien, dat een enkele DNA breuk in 15 miljoen basen van DNA, snel kan worden opgespoord en gerepareerd. Dat is noodzakelijk voor de gistcel want een enkele niet gerepareerde breuk in het DNA is uiteindelijk dodelijk. U moet ook bedenken dat de DNA schade zich niet zomaar in een stuk kaal DNA bevindt; integendeel, DNA schade verschuilt zich in een ingewikkeld complex van DNA en eiwitten, chromatine genoemd. De situatie is een beetje zoals bij een minnaar die zijn gesluierde geliefde wil kussen: de realisatie van de kus vereist enige manipulatie om het uiteindelijke doel, haar lippen, te vinden. Zo ook in de cel: in de omgeving van de schade moet de chromatine structuur op subtiele wijze geopend worden om herkenning en reparatie van DNA schade mogelijk te maken.

En dit alles moet gebeuren voor een geweldige diversiteit van zeer verschillende DNA schades. Bijvoorbeeld, zonlicht plakt twee DNA basen aan elkaar vast, terwijl röntgenstraling juist breuken in het DNA maakt.

Hoe signaleert de cel al die verschillende soorten van DNA schade? Is er voor ieder type DNA schade een aparte sensor? Het antwoord is, dat er maar een beperkt aantal eiwitten in de cel aanwezig is die DNA schade kan opsporen. Het goede nieuws is dat deze eiwitten meerdere soorten van DNA schade kunnen opsporen. In de beperking toont zich de meester: de cel bezit slechts enkele reparatiesystemen. Het onderzoek naar DNA reparatieprocessen heeft twee opmerkelijke bevindingen aan het licht gebracht. Op de eerste plaats blijkt dat eiwitten betrokken bij reparatie van DNA schade zelden op eigen houtje werken. Reparatie van DNA schade is 'team work' waarbij een groot aantal eiwitten betrokken is. Bij de reparatie van door röntgenstraling veroorzaakte DNA breuken, zijn tientallen verschillende eiwitten betrokken. Reparatie is succesvol als alle eiwitten aanwezig zijn, in elkaar passen en zo op de juiste manier met elkaar kunnen samenwerken. Vergelijk het met een legpuzzel: U krijgt

pas het gewenste resultaat als alle stukjes aanwezig zijn, intact zijn en op de juiste plaats gelegd zijn.

Op de tweede plaats blijken leden van dat reparatieteam gelijkenis te vertonen met menselijk gedrag. Ze hebben namelijk de neiging vreemd te gaan, dat wil zeggen intieme relaties te onderhouden met andere processen in de cel zoals met de verdubbeling van DNA en met genexpressie. Het meest aansprekende voorbeeld van dat laatste is de waarneming door het team van de professoren Jan Hoeijmakers en Dick Bootsma van de Erasmus Universiteit Rotterdam dat reparatie van DNA schade en genexpressie gebruikmaken van een gemeenschappelijke partner, de transcriptiefactor IHH. Deze bevinding heeft ons niet alleen meer inzicht gegeven in de wisselwerking tussen DNA schade reparatie en genexpressie, het vormt ook een verklaring voor de opmerkelijke complexe ziekteverschijnselen die waargenomen worden bij personen met erfelijke defecten in genen die betrokken zijn bij DNA schade reparatie.

Ik heb U een beeld, weliswaar zeer onvolledig, proberen te schetsen van de verdedigingsystemen tegen DNA schade die een cel tot haar beschikking heeft. We weten veel, maar onderzoekers der nieuwe generatie, wees gerust, nog lang niet alles. Ik zal een enkel aandachtspunt kort aanstippen.

Het is duidelijk dat niet alle factoren betrokken bij de DNA schade respons, in beeld zijn gebracht. Technieken om het totale genen pakket van een cel te onderzoeken bieden de mogelijkheid nieuwe factoren op snelle wijze op het spoor te komen. Ik geef U een voorbeeld: in 2001 onderzochten Resnick en medewerkers 3670 verschillende gist stammen voor hun overleving na blootstelling aan röntgenstraling. In dit mega-experiment werden 107 onbekende genen geïdentificeerd betrokken bij stralingsgevoeligheid. In deze groep bevonden zich niet alleen genen betrokken bij DNA schade reparatie en het stoppen van celgroei na DNA schade, maar verrassend genoeg ook genen betrokken bij de opbouw van chromatine, bij de ademhalingsketen, alsmede bij productie, transport, modificatie en degradatie van eiwitten. Belangrijk, een aanzienlijk deel van deze genen zijn ook bekende genen in de mens. In samenwerking met het Hubrecht laboratorium in Utrecht, speuren we naar nieuwe genen betrokken bij stralingsgevoeligheid van een meercellig organisme namelijk het 1 millimeter lange wormpje *C. Elegans*. Ook uit dit onderzoek komen nieuwe genen te voorschijn, en ook weer genen betrokken bij het eiwitmetabolisme en de chromatine opbouw. Wat is de rol van dergelijke veranderingen bij de reparatie van DNA schade en wellicht nog belangrijker, zijn mutaties in genen, betrokken bij deze processen, belangrijk voor de gevoeligheid van de mens voor DNA schade?

U vraagt zich wellicht af: gaat er wel eens iets mis in de cel als de verdediging tegen DNA schade zo goed georganiseerd is? Helaas, zou ik willen zeggen 'de cel is ook maar een mens', de verdediging laat steekjes vallen. Dat weten we uit het feit dat genotoxische agentia genetische veranderingen, mutaties genoemd, veroorzaken. Onderzoek naar mutaties door straling en chemische stoffen was vanaf de oprichting

van het laboratorium door wijlen Professor Frits Sobels een zwaartepunt en resultaten uit dit onderzoek suggereerden dat er twee redenen zijn waarom mutaties ontstaan. Op de eerste plaats werken bepaalde reparatiesystemen niet foutloos.

Bijvoorbeeld breuken in DNA worden met een zekere regelmaat foutief gerepareerd wat aanleiding geeft tot afwijkingen in genen en chromosomen.

De tweede reden voor het ontstaan van mutaties is dat in delende cellen de verwijdering van DNA schade door reparatiesystemen niet compleet is voordat de cel zijn DNA verdubbelt. DNA schade vormt weliswaar blokkades, zoals ik U vertelde, maar de cel beschikt over speciaal toegeruste eiwitten die deze blokkades kunnen passeren tijdens het verdubbelen van het DNA. Dit proces heet translesie synthese en de eiwitten en de bijbehorende genen vormen een geheel nieuw onderzoeksgebied dat ook in ons laboratorium de nodige aandacht heeft. De eiwitten verantwoordelijk voor het passeren van blokkades, dragen bij aan de overleving van een cel na DNA schade. Maar er wordt een prijs voor betaald namelijk veranderingen in het genoom door vorming van mutaties. Er is tenminste een menselijk syndroom met kanker predispositie dat veroorzaakt wordt door een defect in het proces van translesie synthese. Een tweede connectie met kanker is de bevinding dat in longtumoren van rokers sommige van deze speciale eiwitten geactiveerd zijn. Het mes snijdt hier aan twee kanten: de kankercellen overleven DNA schade beter, terwijl systemen die celgroei controleren steeds meer ontregeld raken door mutaties. Er is overigens maar heel weinig bekend hoe belangrijk mutaties in deze genen zijn voor de gezondheid van de mens.

Om de rol van deze en andere DNA schade response genen voor de gezondheid van de mens te onderzoeken hebben we diermodellen zoals muis en rat nodig. Immers, vragen naar de relatie tussen blootstelling enerzijds en toxiciteit en ziekten anderzijds zijn onlosmakelijk verbonden met tijd en dosis van blootstelling, met verschillen in agentia en met genetische verscheidenheid. Naast epidemiologische studies kunnen deze vragen slechts met diermodellen beantwoord worden.

Met de technische mogelijkheden om muizen genetisch te veranderen heeft een nieuwe generatie van muismodellen zijn intrede gedaan. In deze muizen wordt de rol van de DNA schade response onderzocht door één van de meer dan honderd betrokken genen volledig te inactiveren (de zogenaamde knock-out muizen). Opmerkelijk is dat in een aanzienlijk aantal gevallen, geen levende muis geproduceerd kon worden na het volledige inactiveren van een gen. Met andere woorden, een aantal genen betrokken bij DNA schade respons is essentieel voor het leven.

Samen met onderzoeksgroepen in Rotterdam, Leiden en het RIVM in Bilthoven, hebben we het proces van huidkanker in xeroderma pigmentosum muizen onderzocht na blootstelling aan UVB licht, het meest risicovolle onderdeel van zonlicht. De ziekte xeroderma pigmentosum wordt veroorzaakt door een defect in de reparatie van onder andere door zonlicht geïnduceerde DNA schade en dit defect leidt bij xeroderma pigmentosum patiëntjes op jeugdige leeftijd tot huidkanker.

In deze muizen is een van de acht xeroderma pigmentosum genen uitgeschakeld. Deze muizen vertonen verschijnselen als overgevoeligheid voor ultraviolet licht (zoals zonnebrand), huid abnormaliteiten en huid kanker; verschijnselen, die ook karakteristiek zijn voor xeroderma pigmentosum patiënten. Een opvallend goede gelijkenis die laat zien hoe waardevol deze muismodellen zijn om de rol van DNA reparatie als verdediging tegen huidkanker te bestuderen en te meten. Het succes van deze diermodellen heeft er ook toe geleid dat deze muizen ook als proefdieren in kankertests voor geneesmiddelen officieel in gebruik zijn genomen met als voordelen: veel minder benodigde dieren, kortere tijdsduur van de test en een aanzienlijke kostenreductie. Overigens is het niet zo dat een muis in alle opzichten equivalent is aan een mens. Een haarloos muisje is bijvoorbeeld veel gevoeliger voor huidkanker na een bepaalde dosis van ultraviolet licht dan de mens. Eén punt is opvallend namelijk dat de muis niet volledig toegerust is met de superieure verdediging tegen door zonlicht veroorzaakte DNA schade zoals bij de mens. Nogal wiedes zult u denken, de muis hoeft niet zonodig omdat de schepper hem van een serieuze vacht heeft voorzien. De homo sapiens kon, bij gebrek aan een goede vacht, niets anders doen dan zichzelf van een beter reparatiesysteem voorzien. De bonus die bij deze ontwikkeling hoort is dat de superieure verdediging van de mens tegen DNA schade niet beperkt is tot schade door zonlicht in de huid, maar ook een uitstekende bescherming biedt tegen DNA schade, en dus kanker, in interne weefsels en organen.

De moraal van dit verhaal: 'elk nadeel hep zijn voordeel' en voor de extrapolatie van blootstellingrisico van muis naar mens zit er een serieus addertje onder het gras. Het streven om een meer 'gehumaniseerd' muismodel te maken is geen overbodige luxe.

Humane syndromen laten zien dat de DNA schade respons een uiterst belangrijke factor is voor de gezondheid van de mens. Steeds vaker wordt bij patiënten met predispositie voor kanker of gevoeligheid voor straling of chemische stoffen defecten in de DNA schade respons gevonden. Kunnen we nu met onze kennis van agentia en de DNA schade respons, risico's na blootstelling beter in kaart brengen en meten? Kunnen we voor ieder persoonlijk de gevoeligheid voor genotoxische agentia voorspellen, ook bij blootstelling aan dit soort agentia in de medische therapie? Kunnen we met deze kennis een essentiële bijdrage leveren bij de verbetering en handhaving van kwaliteit van leven, met name op oudere leeftijd? Of is het samenspel van de verschillende verdedigingssystemen tegen DNA schade te complex voor ons en onze computers om bruikbare voorspellingen te doen? Om strategieën te ontwikkelen om tot op maat gesneden bescherming tegen genotoxische agentia te komen?

Ikzelf en met mij veel andere onderzoekers geloven in de mogelijkheid dat schatting van blootstellingrisico's spectaculair te verbeteren is op basis van onze kennis van de DNA schade respons, van de technische mogelijkheden om het totale pakket aan genen te analyseren, van de geavanceerde opslag en analyse van data en van de beschikbare diermodellen. Het perspectief dat lonkt is feitelijk een nieuw vakgebied dat het best als 'systems toxicology' kan worden aangeduid.

Een essentiële stap in de richting van verbeterde risicoschatting is het verkrijgen van antwoord op de vraag in hoeverre genetische variaties in genen betrokken bij de DNA schade respons, bijdragen tot het risico op kanker en andere ziekten. De ernstige klinische verschijnselen bij patiënten die aan zeldzame syndromen zoals xeroderma pigmentosum lijden, worden meestal veroorzaakt door afwezigheid van een eiwit of door een sterk gehandicapt eiwit, dat slecht functioneert. Maar wat is het risico als er sprake is van mutaties, die een eiwit maar heel beperkt in zijn functie aantasten? Dergelijke mutaties kunnen voorkomen als gevolg van de genetische variatie binnen de menselijke populatie. In vaktermen worden deze variaties polymorphismen genoemd. Deze variaties komen voor met een frequentie van 1 op 300 basen in het DNA, totaal dus zo'n 10 miljoen in het menselijk genoom. U begrijpt, het is onmogelijk om voor iedere variant de ziektegevoeligheid vast te stellen en dus is het logisch om ons te concentreren op genen waarvan bekend is dat ze belangrijk zijn voor de verdediging tegen DNA schade, zoals genen betrokken bij de reparatie van DNA schade. Het 'Environmental Genome Project' in de VS is een voorbeeld van een dergelijke aanpak.

Associaties tussen genetische variaties en het risico van verschillende vormen van kanker worden onderzocht in epidemiologische studies. In een overzichtsstudie in december 2002 analyseerde Potter meer dan dertig gepubliceerde studies naar de relatie tussen variaties in DNA schade reparatie genen en kanker. Zijn conclusie is dat de meeste studies helaas te beperkt zijn om harde gegevens op te leveren. Maar ook dat de gegevens wijzen op een verhoogd of verlaagd risico op kanker voor bepaalde variaties in een drietal DNA schade reparatie genen. De trend is gezet en de start van een, voor alle duidelijkheid, immense onderneming is gemaakt! Een wetenschappelijke uitdaging, waaraan een fiks kostenplaatje hangt. Het is uitgesloten dat een afdeling of zelfs een divisie dit kan realiseren en daarom ligt het voor de hand dat de uitdaging nationaal of in Europees verband beantwoord wordt.

De gestage vooruitgang in de identificatie van genetische variaties gaat parallel met de ontwikkeling van steeds snellere methoden om deze van grote aantallen personen vast te stellen. Deze ontwikkelingen zullen het mogelijk maken om als het ware een palet van genetische variaties vast te stellen. Bovendien levert dit een uiterst belangrijk extraatje voor de onderzoekers op. Deze informatie zal de mogelijkheid bieden genetische variaties in genen te analyseren die samen een team vormen zoals het DNA schade reparatie team. Of in vaktaal een biologisch netwerk vormen. Een dergelijk team kan alleen dan zijn functies goed uitoefenen als alle leden optimaal in team verband kunnen werken. We verwachten nu dat wanneer bijvoorbeeld in het DNA schade reparatie team, meerdere eiwitten een kleine gedaanteverandering hebben ondergaan, er van een optimale uitvoering van hun gezamenlijke taak geen sprake meer is en dat er dus mogelijk een verhoogd risico voor ziekte is.

Een onmogelijke onderneming? Met een succeskans vergelijkbaar met Uw kans op de hoofdprijs in de nationale postcode loterij? Ik denk van niet mits het onderzoek selectief gericht is op individuen die een verhoogd risico op ziekten zoals kanker vertonen.

Bijvoorbeeld individuen, die deze ziekte in een relatief jonge fase van hun leven krijgen.

Selectie is ook de sleutel in een andere benadering van de vraagstelling. Het uitgangspunt is het gegeven dat ca 60% van alle kankerpatiënten met ioniserende straling behandeld wordt, en dat circa 5 tot 10% van de behandelde patiënten ernstige vormen van toxiciteit tengevolge van de straling vertoont. Een verscheidenheid van risicofactoren speelt hierbij een rol, van leeftijd tot suikerziekte.

De gedachtegang nu is dat een onbekend deel van de ernstige toxiciteit toe te schrijven is aan subtiele defecten in de DNA schade respons. Deze defecten worden pas manifest als tumor en het omringend gezonde weefsel aan een hoge dosis van schade wordt blootgesteld zoals bij radiotherapie. Een zelfde redenatie kan overigens worden opgezet voor chemotherapie.

Hoe kun je de DNA schade respons in patiënten met duidelijke verschillen in toxiciteit na bijvoorbeeld radiotherapie het best benaderen? Het algemene idee binnen het onderzoeksgebied is dat verandering in genexpressie na DNA schade een gevoelig biologisch eindpunt is om stralingstoxiciteit te voorspellen. En ...het is wel zo makkelijk dat we het gereedschap hebben om expressie van vrijwel alle menselijke genen tegelijkertijd te meten met behulp van zogenaamde DNA chips. DNA chips zijn niets anders dan kleine glazen plaatjes van zo'n 1 vierkante centimeter waarop momenteel het expressieniveau van alle 30.000 menselijke genen tegelijkertijd kan worden onderzocht. Bedenkt U eens, hoe mooi en bruikbaar het voor de kliniek zou zijn als we de DNA schade respons kunnen inschatten met behulp van een kleine DNA-chip en voorspellingen kunnen doen ten aanzien van effectiviteit en bijwerkingen van medische behandelingen.

De eerste succesvolle benadering om met behulp van genexpressie analyse stralingsgevoeligheid te voorspellen werd onlangs, in april 2004, gepubliceerd door een onderzoeksgroep van de Stanford Universiteit in de VS. In een dergelijke analyse worden bloedcellen van patiënten afgenomen, bestraald en wordt de genexpressie gemeten met behulp van DNA-chips. Voor ons laboratorium een tegenvaller want we zijn met een vergelijkbaar onderzoek bezig, maar anderzijds stimulerend, de resultaten zijn te beschouwen als een bewijs dat een dergelijke benadering werkt. In een kleine groep van kankerpatiënten met verschillen in stralingstoxiciteit werd in ongeveer 65% van de gevallen correct de toxiciteit voorspeld waarbij geen valse positieven voorkwamen. Uit het totaal aantal van 12.000 onderzochte genen konden de onderzoekers ca 24 voorspellende genen selecteren. En, u vermoedt het al, een niet onaanzienlijk aantal van de voorspellende genen hebben een functie in de DNA schade respons.

In samenwerking met de afdelingen radiobiologie en radiotherapie van het LUMC en het AMC is onder leiding van Harry Vrieling en Micheline Giphart een onderzoek gestart naar de stralingstoxiciteit van patiënten. Het Leids-Amsterdams onderzoek is geconcentreerd op patiënten die bestraald worden voor prostaatkanker. Twee groepen patiënten worden vergeleken: een groep met ernstige toxiciteitsverschijnselen en een

groep zonder bijeffecten van de bestraling. Meer dan 22.000 genen zijn onderzocht in bestraalde bloedcellen van patiënten, uit elk van de twee groepen van 10 patiënten. Ook uit ons onderzoek blijkt dat een klein aantal genen een voorspellende waarde heeft voor stralingstoxiciteit. Uitbreiding van het aantal onderzochte patiënten ligt voor de hand. Momenteel hebben we voor ons onderzoek, naast financiële ondersteuning van het LUMC, internationale ondersteuning onder andere via projecten van de Europese Unie.

Voor alle duidelijkheid, deze studies hebben het waarom van de stralingstoxiciteit niet opgehelderd. Het is eigenlijk verbazingwekkend dat onderscheid gemaakt kan worden tussen deze twee groepen patiënten gezien de genetische variatie tussen individuen. Deze onderzoeken laten alleen zien dat stralingsgevoeligheid van patiënten, en nu moet ik me uiterst voorzichtig opstellen, mogelijk te voorspellen is op basis van genexpressie patronen. De vraag ligt nu voor de hand of, via specifieke en herkenbare verschillen in genexpressie na DNA schade, ook een soort vingerafdruk van een slecht werkende DNA schade response kan worden verkregen.

Onderzoek in gist toont aan dat circa een derde van de 5695 gistgenen significante veranderingen in genexpressie ondergaat na blootstelling aan genotoxische agentia en dat deze veranderingen voor een deel stof specifiek zijn. Met andere woorden, röntgenstraling beïnvloedt de expressie van die gist genen anders dan zonlicht of tabaksrook. De resultaten van weliswaar beperkt onderzoek laten ook zien dat de uitschakeling van een enkel gen betrokken bij de DNA schade respons een dramatisch effect heeft op de genexpressie na blootstelling aan genotoxische stoffen. Dat geldt zowel voor genen betrokken bij reparatie van DNA schade als bij de remming van de celgroei, het verschijnsel is waargenomen in gist en in menselijke cellen. Ik ben dus voorzichtig optimistisch dat ook genetische variaties in DNA schade response genen een herkenbaar stempel drukken op expressie van genen in cellen na blootstelling aan genotoxische agentia. DNA chips kunnen dus bijdragen tot de identificatie van een slecht werkende DNA schade respons en zodoende tot een betere risicoschatting.

‘Is that all there is?’ vroeg zangeres Peggy Lee zich af in 1969. Zeker niet. Ik probeer U in een paar zinnen een fascinerende toekomst te schilderen. DNA chips vertellen niet alleen iets over expressie van menselijke genen, maar bieden de mogelijkheid om met de hulp van een getalenteerde biostatisticus patronen te herkennen. Ik bedoel hiermee dat groepen van genen eensgezind, als team reageren op genotoxische agentia. Netwerken van genen onder leiding van een gemeenschappelijk controleur. Ook analyse van interacties tussen eiwitten (er zijn nu 4000 tot 5000 interacties bekend in gist) heeft groepen eiwitten aan het licht gebracht, die onderdeel zijn van een netwerk: ieder eiwit in het netwerk is belangrijk voor de verdediging tegen DNA schade. Het voegt een nieuwe dimensie toe aan onderzoek van de DNA schade response aangeduid als ‘netwerk biologie’ of ‘systeem biologie’. Het dwingt ons cel, weefsel of organisme te zien als een systeem van met elkaar communicerende netwerken die reageren op DNA schade.

Niet alle onderdelen in een netwerk zijn even belangrijk, vergelijk het met een orkest. De dirigent is essentieel voor een herkenbare en aansprekende vertolking van een partituur, de eerste violist drukt een duidelijk stempel op de uitvoering, maar als de triangel speler de slag mist, dan heeft dat meestal wat minder effect. (Met excuses voor de eventuele triangel speler onder ons.) De dirigent in een biologisch netwerk is vaak een cruciaal eiwit betrokken bij meerdere netwerken zoals bijvoorbeeld het DNA schade respons gen p53 dat bij kanker in de mens zo'n grote rol speelt. Uitschakeling van een dirigent heeft grote gevolgen voor de gezondheid zoals dit manifest wordt in menselijke syndromen met gevoeligheid voor DNA schade. Inventarisatie van deze netwerken, de dirigenten en musici, levert de genetisch partituur op van het meesterstuk dat we cel noemen en uiteindelijk het organisme zelf. Het zal naar mijn verwachting inzichten in de relatie tussen genetica, blootstelling aan genotoxische agentia en gezondheid sterk verbeteren en duidelijk maken op welke genen onze aandacht gericht moet zijn als we de response na DNA schade willen begrijpen en voorspellen.

Tot slot wil ik graag een aantal mensen toespreken en bedanken.

Ik dank U, mijnheer de Rector Magnificus, het College van Bestuur en de Raad van Bestuur van het Leids Universitair Medisch Centrum voor het in mij gestelde vertrouwen en voor uw bijdrage aan de totstandkoming van mijn benoeming. U onderstreept hiermee het belang van het vakgebied der Toxicogenetica voor onderwijs, onderzoek en medische zorg.

Ik wil hierbij ook mijn waardering en dank uitspreken voor de samenwerking met collega onderzoekers in het vakgebied.

Hooggeleerde Bootsma, beste Dick. Jij bent een van de nestors van het onderzoek naar DNA schade reparatie dat zijn bakermat had in het MBL te Rijswijk. Voor mij ben je een bron van inspiratie, zowel als wetenschapper en als organisator.

Hooggeleerde Hoeijmakers, beste Jan, gedreven onderzoeker. Ik wil je bedanken voor de langdurige en vruchtbare samenwerking, die veelomvattend was en is: van mycoplasma vrije cellijnen tot geïntegreerde EU projecten. Ik wil hierbij ook uitdrukkelijk je teamgenoten betrekken, met name wil ik hierbij Wim Vermeulen en Roland Kanaar noemen.

Hooggeleerde Van Driel, beste Roel. Als Amsterdamse component van onze NWO reparatieploeg waardeer ik je originele ideeën over de cel en zijn chromatine inhoud. Onze samenwerking en jouw verdere scholing tot DNA schade reparateur worden vervolgd.

Zeergeleerde Harry van Steeg: met jouw muisfaciliteiten op het RIVM overstijgt het onderzoek de eppendorf en petrischaal; je bent een onmisbare schakel in ons consortium en ik verheug me op onze intensieve samenwerking in de nabije toekomst.

Zeergeleerde De Gruijl, beste Frank. Van harde fysicus via muizenboer (het zijn je eigen woorden) tot wat zachtere bioloog met de scherpe blik van een fysicus. De samenwerking met jou en je team en samen met Henk van Kranen, ooit begonnen in Utrecht, was en is een geweldige ervaring. Dat proeft naar meer wetenschappelijke muizenissen in de nabije toekomst.

Ik wil mijn collega's binnen het LUMC en het Sylvius lab, van facilitaire dienst tot financiële administratie, bedanken voor de goede samenwerking en de plezierige werksfeer. Verder wil ik mijn erkentelijkheid uitspreken voor de steun van het KMT van divisie 5 van het LUMC.

Collega's en medewerkers van de afdeling Toxicogenetica. Goede tijden of slechte tijden, we staan als team op het wetenschappelijk podium met grote ambities. Ik wil jullie bedanken voor het vertrouwen, voor jullie grote inzet en voor de plezierige samenwerking. Ik wil slechts enkele personen in het bijzonder noemen en aanspreken.

Hooggeleerde Lohman, beste Paul. Jij was de opvolger van Frits Sobels; ik heb het dirigerestokje van je overgenomen. Bedankt voor alle steun en ruimte die je me gaf.

Hooggeleerde Natarajan, beste Nat. Het heeft meteen tussen ons geklikt, vooral in de begin jaren was je een mentor voor mij, ook al heb ik alleen maar aan de cytogenetica willen ruiken. Ik wil je bedanken voor de vele jaren van wetenschap en vriendschap.

Hooggeleerde van Zeeland, beste Bert. Je creëert in een hectische omgeving een oase van rust, een basis om logisch te denken, om wilde ideeën te ordenen. Dat alles met een verdraagzame glimlach. Bedankt voor de onmisbare steun bij de organisatie van de afdeling en de lange vriendschap.

Lieve papa, bedankt voor de grote steun en aandacht. Je hebt het samen met mama voor mij mogelijk gemaakt de plaats te bereiken waar ik nu sta.

Tenslotte, naast mijn onderzoeksteam is er nog een team, klein in aantal, maar groot in liefde, genegenheid en plezier. Liefste Riet en Jasper, Aukje en Rikkert. Jullie ondersteuning doet Erica Terpstra's olympische aanmoedigingen verbleken als sneeuw voor de zon. Bedankt voor de altijd aanwezige belangstelling voor mijn werk en vooral voor alle geduld

Ik heb gezegd.

Referenties (voor gedetailleerde informatie)

1. Bootsma D., G. Weeda, W. Vermeulen, H. van Vuuren, C. Troelstra, P. van der Spek and J. Hoeijmakers.
Nucleotide excision repair syndromes: molecular basis and clinical symptoms. *Philos.Trans.R. Soc. Lond.B.Biol.Sci.* **347** (1995), 75-81.
2. Lehman A.R. and A.M. Carr.
DNA damage, repair and the cell cycle. *Trends Cell. Biol.* **4** (1994) 24-26.
3. Pastink A., J.C. Eeken and P.H. Lohman.
Genomic integrity and the repair of double-strand DNA breaks. *Mutation Res.* **480-481** (2001), 37-50.
4. Volker M., M.J. Mone, P. Karmakar, A. van Hoffen, W. Schul, W. Vermeulen, J.H. Hoeijmakers, R. van Driel, A.A. van Zeeland and L.H. Mullenders.
Sequential assembly of the nucleotide excision repair factors in vivo. *Mol. Cell* **8** (2001), 213-224.
5. Rieger K.E., W.J. Hong, V.G. Tusher, J. Tang, R. Tibshirani and G. Chu.
Toxicity from radiation therapy associated with abnormal transcriptional responses to DNA damage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101** (2004), 6635-6640.
6. Begley T.J. and L.D. Samson.
Network responses to DNA damaging agents. *DNA Repair (Amst.)* **3** (2004), 1123-1132.

