

Medicijn en venijn binnenstebuiten gekeerd

Rede

in verkorte vorm uitgesproken bij de aanvaarding van
het ambt van hoogleraar in de
Farmacologie en Toxicologie van Transportprocessen
aan de Faculteit der Medische Wetenschappen en
de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica
van de Katholieke Universiteit Nijmegen
op vrijdag 17 november 2000

door

Dr. F.G.M. Russel

*Willst du dich am Ganzen erquicken,
So musst du das Ganze im kleinsten erblicken.*

Johann Wolfgang von Goethe
(1749-1832)

© 2000, F.G.M. Russel

ISBN 90 373 0549 0

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, door middel van druk, fotokopie, microfilm of andere wijze, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de auteur.

*Mijnheer de Rector Magnificus
Zeer gewaardeerde toehoorders,*

DE ONTDEKKING van penicilline door Alexander Fleming in 1928 is zonder twijfel een van de belangrijkste mijlpalen in de geschiedenis van de geneeskunde. Het verhaal van de penicillineschimmel die bij toeval in een van zijn bacteriekweken terecht was gekomen en daar de groei van bacteriën remde, is alom bekend. Veel minder bekend is dat het meer dan 10 jaar zou duren voordat het grote belang van deze ontdekking duidelijk werd. Toen Fleming zijn eerste lezing over penicilline hield zat er maar een handvol mensen in de zaal, waarvan de meesten ook nog in slaap waren gevallen. Wat dat betreft bevind ik mij vandaag in een heel wat gelukkiger positie.

Het belangrijkste obstakel dat de toepassing in de therapie zo lang in de weg stond, was de beperkte beschikbaarheid van penicilline. De eerste pogingen van Fleming om filtraten van de schimmel op geïnfecteerde wonden toe te passen mislukten jammerlijk vanwege de lage concentraties en de beperkte effectiviteit van de lokale toediening. Pas dankzij de interesse van chemici voor penicilline, slaagden Florey en Chain er in 1940 in om de stof te isoleren en op bescheiden schaal te produceren. Zij injecteerden penicilline in geïnfecteerde muizen en daarna in mensen, en bevestigden zo de effectieve antibacteriële werking. Het tijdperk van de antibioticatherapie was begonnen en Fleming, Florey en Chain ontvingen hiervoor in 1945 de Nobelprijs. De productie van penicilline bleef voorsnóg een moeizame aangelegenheid. De schimmel werd gekweekt in beddenpannen en er was zeker 300 liter kweekmedium nodig om voldoende penicilline te produceren voor de behandeling van één patiënt. Daar komt nog bij dat eenmaal toegediend aan de patiënt de werking maar van korte duur was, vanwege de zeer snelle uitscheiding in de urine. Deze urine werd dan ook opgevangen om het penicilline er weer uit te isoleren en opnieuw te gebruiken. Tegen het einde van de Tweede Wereldoorlog was het productieproces door de opkomst van de farmaceutische industrie in de Verenigde Staten zover verbeterd dat er voldoende penicilline aan het front beschikbaar was. De sterfte onder de oorlogsslachtoffers nam hierdoor spectaculair af, waarmee de klinische effectiviteit van penicilline definitief was vastgesteld.

Vanwege de grote vraag naar dit nieuwe wondermedicijn en het nog relatief kostbare productieproces, bleef het antibioticum voorlopig duur en schaars. De snelle uitscheiding van penicilline in de urine was daarbij een praktisch bezwaar. Een half uur na toediening is de helft van de dosis al uit het lichaam verdwenen. Enkele jaren voor de ontdekking van penicilline hadden nierfysiologen gevonden dat de kleurstof fenolrood door niercellen actief uit het bloed wordt opgenomen en in de urine wordt geconcentreerd. Fenolrood is een organisch anion, dat wil zeggen een organische verbinding met een negatieve lading. De relevantie van deze bevinding voor de farmacologie werd al snel duidelijk toen bleek dat penicilline, ook een organisch anion, op vergelijkbare wijze door de nier wordt getransporteerd. Dit bracht Karl Beyer van de firma Sharp and Dohme ertoe om op zoek te gaan naar een organisch anion dat in staat zou zijn om het actieve transport van penicilline door competitie te blokkeren en zodoende het snelle verlies van penicilline uit het lichaam te voorkomen. De ontdekking van de stof probenecide in 1951 was het succesvolle resultaat van deze zoektocht.¹ Probenecide is de eerste transport-remmer die in de therapie werd toegepast om de effectiviteit van een ander geneesmiddel te verhogen. Dankzij dit middel werd de verblijftijd van penicilline in het lichaam aanzienlijk verlengd, waardoor met lagere doseringen kon worden volstaan.

De toepassing van probenecide als penicillinesparend middel raakte in de daaropvolgende jaren langzaam in onbruik, omdat penicilline in steeds meer soorten en ook in voldoende mate beschikbaar kwam. In 1988 dook probenecide opnieuw op, maar nu in negatieve zin, in de sport. Wielerkenners onder u herinneren zich misschien nog dat in de Tour de France van 1988 de Spaanse wielrenner Pedro Delgado op de aanwezigheid van probenecide in zijn urine werd betrapt. De bedoeling daarvan liet zich gemakkelijk raden. Zoals probenecide de uitscheiding van penicilline vermindert, remt het ook het transport van sporen van de verboden anabole steroïden in de urine. Hij wist zo op listige wijze een positieve uitslag van de dopingcontrole te ontlopen en mocht ongehinderd de Tour van dat jaar winnen, omdat de Internationale Wielervederbond had verzuimd om probenecide als maskeringsmiddel op de dopinglijst te plaatsen.

Heel recent is er een nieuwe toepassing voor probenecide gevonden, als ondersteuning van de therapie met het antivirale middel cidofovir. Nu niet om de effectiviteit van dit middel te verhogen, maar juist om ongewenste

toxische effecten te voorkomen. Cidofovir wordt gebruikt bij bepaalde virusinfecties van het netvlies. Het devies is hoe hoger de dosis hoe beter, maar de belangrijkste beperking is dosisafhankelijke beschadiging van de nieren. Deze nefrotoxiciteit ontstaat doordat de niercellen die cidofovir uit het bloed opnemen tijdelijk aan zulke hoge concentraties van het middel worden blootgesteld, dat ze het gevaar lopen onherstelbaar beschadigd te raken. Hierbij is hetzelfde transportmechanisme actief als bij de uitscheiding van penicilline in de urine. Door remming van het cidofovirtransport met probenecide wordt de concentratie in de niercellen verlaagd en vermindert de kans op nefrotoxiciteit. Daarom wordt aan elke patiënt die cidofovir krijgt toegediend als bescherming ook probenecide gegeven.

Dames en Heren, met deze voorbeelden hoop ik u een eerste beeld geschetst te hebben van het belang van transportprocessen voor de farmacologie en toxicologie. Het vermogen van ons lichaam om binnenkomende stoffen weer naar buiten te keren is een van de belangrijkste beschermingsmechanismen tegen de schadelijke effecten van medicijn en venijn, ofwel geneesmiddel en vergift. In het vervolg van mijn rede zal ik proberen aan de hand van eigen onderzoek, en dat van anderen, duidelijk te maken dat we op het punt staan deze transportprocessen tot op moleculair niveau te doorgronden. Deze kennis zal in de toekomst van groot belang zijn voor de ontwikkeling van effectievere en veiligere geneesmiddelen, waarmee patiënten gerichter en met minder bijwerkingen behandeld kunnen worden.

Alarmfase III

ONS LICHAAM wordt dagelijks blootgesteld aan een grote hoeveelheid lichaamsvreemde stoffen. Dit kan met opzet zijn in de vorm van geneesmiddelen of genotmiddelen, zoals alcohol, coffeïne en nicotine. Maar ook onbedoeld door de aanwezigheid van schadelijke stoffen in ons voedsel, drinkwater of de lucht die we inademen. Gelukkig kan het lichaam wel tegen een stootje. Net als andere levende organismen heeft de mens in de loop van de evolutie geleerd om stand te houden in een natuur vol chemische gevaren. Om als planteneter te overleven moest hij ook om kunnen gaan met de schadelijke stoffen die zo het lichaam binnenkwamen.

Veel planten produceren namelijk een groot arsenaal aan toxische verbindingen om zich te verdedigen tegen bacteriën en schimmels of tegen vraat door insecten. Zelfs de gewassen die we in onze moderne tijd gecultiveerd hebben voor de dagelijkse consumptie bevatten kleine hoeveelheden van deze stoffen. Dankzij de grote verscheidenheid aan verbindingen in de natuur heeft de mens een veelzijdig afweermechanisme ontwikkeld. Zo veelzijdig dat het ook goed voldoet als bescherming tegen de meeste geneesmiddelen en chemische producten die pas in de laatste 100 jaar door de mens zelf zijn gemaakt.

Voor de verwijdering van geneesmiddelen en toxische stoffen uit het lichaam is een goed samenspel nodig tussen lever en nieren. De nier is het uitscheidingsorgaan van tal van afvalproducten van de normale stofwisseling, en het is dan ook niet verwonderlijk dat de meeste lichaamsvreemde stoffen uiteindelijk ook via de urine worden verwijderd. Een belangrijke beperking is wel, dat alleen stoffen die goed in de waterige urine oplossen uitgescheiden worden. De meeste lichaamsvreemde stoffen voldoen daar niet aan en zijn juist eerder vetoplosbaar. Dankzij die eigenschap worden ze snel opgenomen en verdelen ze zich gemakkelijk over het lichaam. De nieren hebben echter weinig vat op vetoplosbare verbindingen, waardoor de uitscheiding in de urine traag verloopt. In veel gevallen zal een stof dus eerst geschikt gemaakt moeten worden voor uitscheiding door chemische omzetting. Dit proces van nierrijp maken wordt ook wel biotransformatie genoemd, en vindt met behulp van een groot aantal enzymen plaats in levercellen. Zonder biotransformatie zouden geneesmiddelen in plaats van enkele uren tot dagen, vele weken tot maanden in het lichaam werkzaam blijven. Uit oogpunt van kostenbesparing zou de minister van Volksgezondheid dat misschien wel een aantrekkelijke gedachte vinden, maar geneesmiddelen zouden voor de arts en de patiënt letterlijk onhandelbaar zijn.

De transportprocessen die leiden tot de uiteindelijke verwijdering van een toxische stof uit het gealarmeerde lichaam, vormen de kroon op het proces van biotransformatie. Het is de laatste fase van ontgiftig. Uitscheiding van de omzettingsproducten door de nieren vindt op twee manieren plaats. Via filtratie uit het bloed en via actieve uitscheiding door de niercellen. Dit laatste proces is het effectiefst en verloopt vier- tot vijfmaal sneller dan filtratie. In de membranen van niercellen zitten transporteiwitten die stoffen uit het bloed opnemen en naar de urine pompen. Vandaar dat dit actief transport wordt genoemd. Omdat

biotransformatie in twee fasen verloopt, wordt het daaropvolgende transport naar buiten ook wel met fase III aangeduid. In fase I vindt een chemische verandering of splitsing plaats. Bij een fase II-reactie wordt een lichaamseigen stof aan het molecuul gekoppeld. Het aldus ontstane product is meestal niet meer werkzaam en kan gemakkelijk uitgescheiden worden. De onderlinge samenhang van deze processen kan geïllustreerd worden aan de hand van de lotgevallen van aspirine in het lichaam. Na opname in het bloed wordt aspirine, ofwel acetylsalicylzuur, gesplitst tot salicylzuur. Vervolgens vindt in de lever koppeling met het aminozuur glycine plaats, waardoor het salicyluurzuur ontstaat. Dit product is goed wateroplosbaar en uitermate geschikt om via de transporteiwitten voor organische anionen snel en effectief in de urine te worden uitgescheiden. Overigens hoeven niet alle lichaamsvreemde stoffen eerst omgezet te worden om in de urine uitgescheiden te worden. Penicilline is daar een goed voorbeeld van.

Modellen zijn minder dan de werkelijkheid

TOEN IK IN 1983 op het toenmalige Farmacologisch Instituut van deze universiteit als promovendus begon, was salicyluurzuur een van de eerste stoffen waarvan ik de nieruitscheiding bestudeerde. Dat ik als pas afgestudeerd apotheker in Nijmegen terecht kwam was niet geheel toevallig. Tijdens de farmaciestudie in Groningen werd mijn fascinatie gewekt voor het transport van geneesmiddelen in het lichaam, ofwel de farmacokinetiek. De schoonheid van de abstracte wiskundige benadering van dit vakgebied, maar ook de drang om de werking van transportprocessen tot op het kleinste detail te doorgronden hebben me sindsdien niet meer losgelaten. Ik bestudeerde onder de bezielende begeleiding van Prof. Meijer transportprocessen in de lever en het had niet veel gescheeld of ik was daar na mijn afstuderen mee doorgedaan. Geldgebrek en een dreigende opheffing van twee farmacie-opleidingen in Nederland beslisten echter anders. Gelukkig werkten ook op universitair niveau lever en nieren goed samen, en zo kwam ik van het leveronderzoek in Groningen in het Nijmeegs niertransportonderzoek terecht.

Het doel van mijn promotieonderzoek was om de actieve transportprocessen in de nier zo nauwkeurig mogelijk te beschrijven om uiteindelijk belangrijke vragen te kunnen beantwoorden als: Wat bepaalt

of een stof wel of niet actief wordt uitgescheiden? Hoe beïnvloedt actieve uitscheiding de effectiviteit en veiligheid van geneesmiddelen? Waarom is de nier zo gevoelig voor toxiciteit? En waarom is de ene patiënt gevoeliger dan de andere voor nefrotoxiciteit? Vragen die nog steeds actueel zijn en dat voorlopig ook zullen blijven, vanwege de groeiende stroom van nieuwe geneesmiddelen en toxische stoffen die op ons af blijft komen.

Een van onze onderzoekstrategieën die we toepasten en nog steeds gebruiken is het bouwen van modellen die de lotgevallen van een stof in de nier zo goed mogelijk voorspellen. Het aardige van modelleren is dat de werkelijkheid met opzet geweld wordt aangedaan. Dat is nodig om de werkelijkheid hanteerbaar te maken. Eigenlijk doen we onbewust niet anders in het dagelijks leven, om voor onszelf enige orde te brengen in de complexe wereld om ons heen. Het expliciet gebruiken van modellen in de wetenschap is een stuk lastiger. De kunst is om zoveel mogelijk weg te laten en de relevante details niet te ingewikkeld weer te geven. De nier vereenvoedigen we tot een systeem met niet meer dan drie compartimenten, waarin het bloed uit de algemene circulatie stroomt en wordt gefiltreerd, de niercellen stoffen van bloed naar urine transporteren, en de geproduceerde urine wordt uitgescheiden. Om de modellen te testen en toepasbaar te maken werd de urine-uitscheiding van salicylzuur en tientallen verwante verbindingen in de hond onderzocht en werden honderden bloed- en urinemonsters geanalyseerd. Ondanks deze simpele voorstelling van zaken was er veel computerkracht nodig om de modelberekeningen uit te voeren. Gelukkig waren de faciliteiten daarvoor uitstekend. De farmacokinetiek was in het begin van de jaren zeventig op het Farmacologisch Instituut min of meer uitgevonden door Prof. van Rossum en zijn promovendi. Een van hen was mijn leermeester, Cees van Ginneken, die inmiddels zelf al op jonge leeftijd hoogleraar was geworden. Dankzij die rijke voorgeschiedenis stonden er op verschillende plaatsen in het instituut grote IBM-terminals, die rechtstreeks met het rekencentrum waren verbonden. Een unieke situatie voor die tijd. Toch bleek het modelleren een tijdrovende bezigheid te zijn. Eén berekening kostte al gauw meer dan twee minuten zuivere rekentijd, wat afhankelijk van het tijdstip van de dag neerkwam op 3 tot 15 minuten wachten. Duizenden van die berekeningen heb ik tijdens mijn promotietijd uitgevoerd. Aangezien de rekensnelheid het hoogst was buiten de normale werktijden, heb ik heel wat nachtelijke uren achter het beeldscherm doorgebracht. Af en toe

onderbroken door een partijtje gangvoetbal met mijn medepromovendi, die ook druk aan het werk waren.

Een van de verrassende resultaten van dit modelleerwerk was dat de uitkomsten voorspelden dat sommige stoffen de neiging vertonen om tijdelijk te accumuleren in niercellen. Voor salicyluurzuur bijvoorbeeld werden concentraties in de niercel berekend die tien- tot twintigmaal hoger waren dan de bloedconcentratie.² Wanneer tegelijkertijd probenecide werd toegediend kwam de voorspelde celconcentratie niet hoger dan twee- tot viermaal de bloedconcentratie. Ook voor andere organische anionen werden hoge accumulatiewaarden gevonden, soms zelfs ver boven de honderd. Dit komt omdat de snelheid van opname de niercel in, veel groter is dan de snelheid van transport de cel uit. Hierdoor ontstaan tijdelijk zeer hoge concentraties die schadelijk kunnen zijn. Het antivirale middel cidofovir, dat ik in de inleiding noemde, is daar een voorbeeld van. Met probenecide raken de transporteiwitten voor opname overbelast, waardoor ze geen tijd hebben om cidofovir te accumuleren. De niercellen worden zo gespaard. Andere geneesmiddelen en toxische stoffen die net als cidofovir nierschade kunnen veroorzaken zijn te vinden onder de antibiotica, de pijnstillers, de cytostatica, de röntgencontrastmiddelen en sommige schimmel- en plantentoxines. De actieve uitscheiding van geneesmiddelen met een positieve lading, zogenaamde organische kationen, geeft minder aanleiding tot cellulaire accumulatie en dus ook tot toxiciteit. Voor deze stoffen geldt juist dat het transport de niercel in langzamer verloopt dan het transport naar buiten. Tot deze categorie van stoffen behoren bijvoorbeeld maagzuurremmers, bloeddrukverlagers, hartmiddelen en morfine.

De modellen bleken in staat om het verloop van de bloed- en urineconcentratie van verschillende geneesmiddelen nauwkeurig te beschrijven, maar de voorspelde nieraccumulatie was daarmee nog niet bewezen. De mogelijkheid om dat te onderzoeken diende zich in 1988 aan, toen we de beschikking kregen over een unieke opstelling voor het geïsoleerd doorstromen van een rattennier. Deze nierperfusietechniek had goede diensten bewezen in het onderzoek van de nierfysioloog, Prof. Slegers, en leek ook uitermate geschikt om het transport en de effecten van lichaamsvreemde stoffen te bestuderen. Het aantrekkelijke van de methode is dat geneesmiddelen in een gesloten circulatie door de nier stromen en alleen via de geproduceerde urine uitgescheiden worden. Door meting van de hoeveelheid geneesmiddel in het circulerend medium en de uitgescheiden urine is op elk moment te berekenen hoeveel van de stof zich

in de nier bevindt. Bovendien kunnen schadelijke effecten op de nierfunctie tegelijkertijd vastgesteld worden. De met het niermodel voorspelde accumulatiewaarden bleken wonderwel te kloppen met de experimentele resultaten uit de nierperfusie.³ Ook konden we bevestigen dat voor organische anionen de effectiviteit van het opnameproces door de niercellen bepalend is voor de mate van accumulatie. Voor pijnstillers als aspirine, ibuprofen en naproxen, die bekend staan om hun schadelijke effecten op de nier, vonden we een verband tussen de bijwerkingen en de nieraccumulatie.

De nierperfusie blijft een belangrijk model in ons onderzoek om resultaten uit het moleculaire en cellulaire onderzoek te vertalen naar de patiënt en omgekeerd. Inmiddels draaien er twee opstellingen op volle toeren en zijn er plannen om de techniek ook geschikt te maken voor niertjes van de muis. Er komen steeds meer muizen beschikbaar waarin door onderzoekers het gen voor een bepaald transporteiwit is uitgeschakeld. Met deze zogenaamde ‘knock out’-muizen kan het belang van een transporter in de uitscheiding van toxische stoffen door de nier onderzocht worden.

Stapelen zonder bedolven te raken

WAAROM ZIJN DE NIEREN nu zo gevoelig voor toxiciteit? Dat heeft te maken met de bijzonder goede bloeddorstrooming. Van alle organen in het lichaam, ontvangt de nier per gram weefselgewicht het meeste bloed. Zelfs viermaal zoveel als de hersenen. Toxische stoffen die in het bloed aanwezig zijn komen dus vanzelf in grote hoeveelheden in de nieren terecht. Daarnaast dragen de actieve transportprocessen bij tot stapeling van toxische stoffen in de niercellen. Voor niercellen is het dus vaak een kwestie van stapelen zonder bedolven te raken. Ze beschermen het lichaam door schadelijke stoffen naar de urine te transporteren, maar moeten oppassen dat ze daarbij niet zelf het loodje leggen. Meestal kunnen de niercellen het dagelijkse aanbod van toxische stoffen via ons voedsel en leefmilieu wel aan. Maar bij grote hoeveelheden in één keer, bijvoorbeeld na toediening van een geneesmiddel, kan de overvloed soms niet snel genoeg afgevoerd worden, waardoor de cel bedolven raakt en er venijnig hoge concentraties ontstaan.

De niercellen die verantwoordelijk zijn voor het transport van lichaamsvreemde stoffen, liggen in het eerste stuk van de nierbuisjes. Dit deel wordt de proximale tubulus genoemd. Een menselijke nier is opgebouwd uit meer dan 1 miljoen lange gekronkelde buisjes, die allemaal een klein beetje urine produceren. De wand van de nierbuisjes vormt de scheiding tussen bloed en urine en wordt gevormd door een enkelvoudige laag cellen die dicht tegen elkaar aan liggen. Elk buisje begint met een filter, de glomerulus. Het bloed dat de nieren binnenstroomt wordt eerst gefiltreerd in de glomeruli. Stoffen die in het bloed niet aan cellen of eiwitten gebonden zijn komen zo al voor een deel in de urine terecht. Het filtraat, dat eerst nog erg waterig is, wordt in de nierbuisjes ongeveer 10-maal ingedikt voordat het als geconcentreerde urine naar de blaas stroomt. Na filtratie verlaat het bloed niet onmiddellijk de nier, maar omspoelt eerst de nierbuisjes, waaronder ook de cellen van de proximale tubulus. In de membranen van deze cellen zitten aan de bloedkant verschillende transporteiwitten voor de opname van stoffen, en aan de urinekant voor de uitscheiding naar het tubulaire lumen. Opmerkelijk is dat deze eiwitten weinig kieskeurig zijn in de stoffen die ze transporteren. Weliswaar zijn er aparte transporters voor anionen en kationen, maar verder kenmerken ze zich door de grote verscheidenheid aan chemische structuren die herkend worden. Dat is nogal ongebruikelijk. Meestal zijn membraaneiwitten, zoals enzymen of receptoren, juist heel selectief in de stoffen die ze binden of omzetten.

Voor de opname van organische anionen in niercellen is veel energie nodig. De celinhoud is namelijk negatief geladen ten opzichte van het bloed. Omdat organische anionen ook een negatieve lading dragen, moet het transport tegen de electrochemische gradiënt in plaatsvinden. Om tegen de stroom in te kunnen pompen werkt het transporteiwit als een draaideur, die organische anionen uitwisselt tegen anionen in de cel. Meestal is dat α -ketoglutaarzuur, een product van de celstofwisseling, waarvan de concentratie voldoende hoog is om als drijvende kracht te dienen voor de actieve opname van organische anionen. Dat dit een efficiënt transportmechanisme is blijkt wel uit de hoge celconcentraties die sommige organische anionen kunnen bereiken. Dit transporteiwit wordt de organisch-aniontransporter 1 (OAT1) genoemd. Inmiddels zijn er nog twee andere leden van de OAT-familie (OAT2 en -3) in deze membraan ontdekt, maar hun rol in het niertransport van geneesmiddelen en toxische

stoffen is nog onduidelijk.^{4,5} Organische kationen worden een stuk gemakkelijker opgenomen. Vanwege hun positieve lading worden ze vanzelf aangetrokken door de negatief geladen celinhoud. De transporteiwitten hoeven niet veel meer te doen dan de kationen door de membraan heen te sluizen, zonder dat daar extra energie voor nodig is. In de proximale tubuluscel zijn tot nu toe twee van dergelijke organisch-kationtransporters beschreven, OCT1 en -2.

Er is lang gedacht dat organische anionen en kationen na opname simpel oplossen in het celvocht en door de niercel diffunderen, om aan de urinekant naar buiten getransporteerd te worden. Met de komst van geavanceerde microscopische technieken, waarmee het spoor van stoffen op hun weg door de cel precies gevolgd kan worden, werd echter duidelijk dat dit niet het geval is. Stoffen zijn niet gelijk verdeeld over het cytosol, maar vertonen de neiging om zich op bepaalde plaatsen op te hopen. Dat kan fraai zichtbaar worden gemaakt met een techniek die confocale laser-scanningmicroscopie heet. Het principe van deze methode is dat met een laserstraal een dwarsdoorsnede van de cel wordt gemaakt, waarin de positie van fluorescerende verbindingen nauwkeurig bepaald kan worden. Net als op een satellietfoto die op een heldere nacht van een land wordt genomen, kun je op een opname van een cel aan de lichtpuntjes precies zien waar zich de grootste activiteit bevindt, ofwel waar de concentratie van de fluorescerende verbinding het hoogst is. We vonden voor de organische anionen, fluoresceïne en fluoresceïne-methotrexaat, dat ze in niercellen ophopen in mitochondriën en nog niet nader geïdentificeerde blaasjes.⁶ Het is goed denkbaar dat de hoge concentraties die in deze celorganellen worden bereikt een rol spelen bij de nefrotoxiciteit door organische anionen. Vooral mitochondriën, de energiecentrales van de cel, zijn in groten getale aanwezig omdat proximale tubuluscellen energievreters zijn. Schade aan de mitochondriën is dan ook bijna altijd fataal voor deze cellen.

Om niet te verzuipen is het voor een niercel dus van levensbelang om schadelijke stoffen zo snel mogelijk weer kwijt te raken. Met name voor organische anionen bepaalt de snelheid van het transport naar de urine of een cel overspoeld raakt of niet. Het is dan ook niet verwonderlijk dat in de luminale celmembraan transporteiwitten zitten die organische anionen en kationen letterlijk naar buiten pompen. Deze pompen behoren tot een grote familie van transporteiwitten, de zogenaamde ABC-transporters. Een gemeenschappelijk kenmerk van ABC-transporters is dat ze ATP-

afhankelijk zijn, dat wil zeggen dat ze rechtstreeks worden aangedreven door verbranding van ATP, de brandstof van de cel. ATP is in de niercellen volop aanwezig, het wordt geproduceerd door de rijkelijk aanwezige mitochondriën. Er is een pomp voor organische kationen, namelijk P-glycoproteïne, die ook wel ‘multidrug resistance’-eiwit 1 (MDR1) wordt genoemd, en een pomp voor organische anionen, ‘multidrug resistance-associated protein’ 2 (MRP2).^{5,8} De pompen danken hun naam aan het feit dat ze voor het eerst ontdekt zijn in de membranen van kankercellen, die resistent zijn geworden voor chemotherapie. Ze verschaffen deze cellen een ongewenste bescherming door de antikankermiddelen effectief naar buiten te pompen. Kennelijk spelen ze ook een beschermende rol in niercellen. Naast MRP2 zitten er nog een aantal organisch-aniontransporters in de luminale membraan, zoals OATP1, OAT4 en OAT-K1 en -K2, waarvan de functie nog grotendeels onbekend is.^{4,5,8} Het zijn in ieder geval geen ATP-afhankelijke pompen, en het is zelfs nog maar de vraag of ze organisch anionen naar buiten transporteren, of juist opnemen uit de urine. Ook voor organische kationen zijn er aanwijzingen dat er nog meer transporters in deze membraan aanwezig moeten zijn, maar tot op heden zijn ze nog niet gevonden. Welke bijdrage elk van deze transporters levert aan de uitscheiding van geneesmiddelen en toxische stoffen en welke rol ze spelen bij het optreden van nefrotoxiciteit, zijn belangrijke vragen voor de toekomst.

Van kreekvis tot mens

EEN BELANGRIJKE REDEN waarom er nog zo weinig bekend is over de transportprocessen vanuit de niercel naar de urine, is dat deze zo lastig te bestuderen zijn. Niercellen zijn op zich vrij eenvoudig te isoleren. Maar als ze niet meer dicht tegen elkaar aan liggen, is het vaak moeilijk om te zien door welke membraan stoffen naar buiten worden getransporteerd. Het is beter om een stukje proximale tubulus te gebruiken. Het probleem is echter dat het lumen van zo’n afgebroken stukje onmiddellijk dichtklapt, omdat de inhoud door de open uiteinden wegstroomt. Er is dan geen transport meer mogelijk door de luminale membraan.

Om dat probleem te omzeilen maken we in ons onderzoek dankbaar gebruik van de bijzondere eigenschappen van proximale tubuli uit een

klein visje, de killifish. Het visje, dat niet veel groter is dan 10-15 cm, komt voor langs de oostkust van de Verenigde Staten en leeft vlak onder de kustlijn en in rivierbeddingen. Het dankt zijn naam aan de kortstondige Nederlandse historie die dit gebied rijk is, want killifish betekent letterlijk kreekvis, naar het woord kil voor kreek of rivierbedding. De nieren van de killifish bestaan voor het grootste deel uit proximale tubuli die gemakkelijk te isoleren zijn, en lang in goede conditie blijven. Het bijzondere is nu dat de gebroken uiteinden van deze tubuli zich snel sluiten, waardoor er een gesloten en met vloeistof gevuld lumen ontstaat waarin uitscheiding kan plaatsvinden. Bovendien blijken de transportprocessen voor geneesmiddelen en toxische stoffen nagenoeg hetzelfde te zijn als in niercellen van de mens, wat opmerkelijk is voor een organisme dat al zo'n 500 miljoen jaar op aarde leeft. P-glycoproteïne en MRP2, althans de killifish-variant van deze ABC-transporters, komen gewoon voor in de luminale membraan.

Kennelijk vervullen ze een vitale functie, anders waren de genen die de instructie voor het maken van deze eiwitten bevatten in de loop van de evolutie niet behouden gebleven. De mens heeft veel genen gemeen met dieren, micro-organismen, en zelfs planten. Op basis van evolutionaire analyse kunnen ABC-transporters als een van de oudste vormen van cellulaire afweer worden beschouwd. Door bestudering van deze eiwitten in lagere organismen als, bacteriën, gist, fruitvliegjes of de killifish, kan belangrijke informatie over hun functie bij de mens worden verkregen. Het evolutie-onderzoek staat weer opnieuw in het middelpunt van de belangstelling nu we van de eerste levende wezens de totale erfelijke informatie beschikbaar krijgen. Die ervaring is er overigens niet alleen in de wetenschap. Dankzij de Pokémon-rage die over de schoolpleinen waart is de volgende generatie onderzoekers al helemaal vertrouwd met de principes van evolutie en 'survival of the fittest'.

Het merendeel van ons onderzoek met de killifish is uitgevoerd op een eiland voor de Noord-Amerikaanse kust met de avontuurlijke naam, Mount Desert Island. Avontuurlijk is het daar zeker, niet alleen vanwege de natuur maar vooral ook vanwege het stimulerende onderzoeksklimaat dat daar nu al meer dan 100 jaar elke zomer heerst. Het befaamde biologische laboratorium op dit eiland wordt elk jaar bevolkt door Amerikaanse en Europese onderzoekers, die met hun apparatuur, postdocs, studenten en vaak het hele gezin in de zomermaanden neerstrijken om los van alle universitaire beslommeringen in een inspirerende en open sfeer samen te

werken. Dankzij een bijzondere samenwerking met een van de hoofdonderzoekers, Dr. Miller, van het National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS) in North Carolina, hebben verschillende medewerkers van mijn groep in de afgelopen jaren vruchtbaar onderzoek verricht naar de uitscheiding van geneesmiddelen en toxische stoffen in killifishtubuli.

Met dit model hebben we als eerste gevonden dat een lichaamseigen hormoon, endotheline, de pompactiviteit van P-glycoproteïne en MRP2 beïnvloedt.⁷ Endotheline circuleert normaal gesproken in zeer lage concentraties in het bloed. Het is een van de krachtigste vaatvernauwende stoffen in het lichaam. In de nier helpt endotheline mee om de bloedvoorziening en de uitscheiding van water en zouten in goede banen te leiden. Daarnaast speelt endotheline ook een negatieve rol, onder andere bij acuut nierfalen door zuurstofgebrek, afstoting van een getransplanteerde nier, diabetische nierschade en nefrotoxiciteit. Bij al deze ziekteprocessen staan de proximale tubuluscellen onder stress en geven ze grote hoeveelheden endotheline aan de bloedbaan af. Door de sterke vaatvernauwing die dat met zich meebrengt komt de nier steeds verder in de problemen. Wij hebben gevonden dat endotheline door stimulatie van receptoren op de celmembraan een aantal processen in de proximale tubuluscel in gang zet die leiden tot een vermindering van de activiteit van P-glycoproteïne en MRP2. Geneesmiddelen kunnen daardoor minder goed uitgescheiden worden, waardoor de nier nog kwetsbaarder is voor de schadelijke effecten van deze stoffen. Het belang voor de praktijk van deze vinding is dat farmacologische blokkade van de endothelinereceptoren op proximale tubuluscellen de nier wellicht kan beschermen tegen nefrotoxische stoffen. Met steun van de Nierstichting Nederland gaan we hier binnenkort een onderzoek naar starten.

Moleculaire pompen tussen effectiviteit en veiligheid

HET GROTE AANTAL verschillende transporteiwitten in de proximale tubuluscel, is het evolutionaire antwoord op de enorme diversiteit aan chemicaliën en toxines waartegen het menselijk organisme zich heeft leren weren. Het belang van actieve uitscheiding als algemeen beschermingsmechanisme wordt onderstreept door de wijde verspreiding

van transporteiwitten in het lichaam. In de lever en darm beletten transporters giftige stoffen zoveel mogelijk om de algemene bloedcirculatie te bereiken. Levercellen verwijderen stoffen via de gal naar het darmkanaal en darmcellen pompen binnenkomende stoffen terug het kanaal in, zodat ze met de ontlasting worden verwijderd. De hersenen beschermen zichzelf door schadelijke stoffen terug naar het bloed te pompen of uit te scheiden in het vocht dat de hersenholten vult. In de placenta beschermen transporteiwitten de foetus.

Hoewel deze moleculaire pompen ons dus in het algemeen beschermen tegen giftige stoffen, keren ze zich soms ook tegen ons. Twee voorbeelden daarvan heb ik al genoemd. Nefrotoxische middelen, zoals cidofovir, worden soms zo sterk in niercellen geconcentreerd dat ze daar schade veroorzaken. Kankercellen ontwikkelen vaak een ongevoeligheid tegen cytostatica door de aanmaak van grote hoeveelheden pompen, zoals het P-glycoproteïne. Hierdoor faalt de chemotherapie bij veel kankerpatiënten. Dit is een groot probleem, vooral omdat één type pomp multiresistentie kan opwekken, dat wil zeggen ongevoeligheid voor een aantal verschillende klassen van cytostatica. De farmaceutische industrie is al jaren op zoek naar remmers van deze pompen om de resistentie te doorbreken. Tot nu toe zonder al te veel succes.

Een vergelijkbaar probleem doet zich voor bij de bestrijding van infecties met antibiotica. De euforie over penicilline aan het eind van de Tweede Wereldoorlog, werd al snel getemperd door het optreden van bacteriële resistentie. Net als kankercellen ontwikkelen bacteriën, schimmels en parasieten steeds nieuwe trucs om te overleven. Transporteiwitten in de celwand van deze organismen pompen een groot scala aan antibiotica die de cel binnenkomen weer naar buiten, en veroorzaken zo multiresistentie. Veel van de pompen die ze daarvoor gebruiken behoren, net als die in de membranen van kankercellen, tot de familie van ABC-transporters. Het tempo waarin de huidige generatie antibiotica steeds minder opgewassen is tegen sommige micro-organismen is bijzonder verontrustend. Het is een beangstigende gedachte dat veel, zo niet alle schadelijke bacteriën die de gezondheid van de mens bedreigen, binnenkort resistent zijn voor alle bekende antibiotica. Er is grote behoefte aan geheel nieuwe typen van antimicrobiële middelen en aan stoffen die selectief de pompen remmen die multiresistentie veroorzaken.

Opvallend is niet alleen de diversiteit aan verbindingen die sommige transporters aan kunnen. Ook het aantal transporteiwitten dat min of meer

dezelfde soort stoffen verwerkt, is opmerkelijk. Zo zijn er op dit moment alleen al in de luminale membraan van de proximale tubuluscel minstens vijf verschillende organisch-aniontransporters bekend. En dat aantal zal zeker nog groeien. Of al deze transporters even relevant zijn voor de uitscheiding van organische anionen door de nier moet nog blijken. Waarschijnlijk is er de nodige overlap in functie. Evolutie selecteert immers niet op excellentie, maar op adequaat functioneren.

Toch is overlap in sommige situaties wel degelijk zinvol. Wanneer een transporteiwit door ziekte of mutatie uitvalt hoeft dit immers niet schadelijk te zijn voor de cel, als het gemis door een andere transporter kan worden opgevangen. Voor de organisch-anionpomp, MRP2, hebben we in de proximale tubuluscel zo'n wisselspeler gevonden. Die zijn we op het spoor gekomen in een bijzondere rattenstam met een aangeboren afwijking, waardoor het transporteiwit MRP2 in alle cellen afwezig is. Een vergelijkbare aandoening komt een enkele keer ook bij de mens voor en staat bekend als het Dubin-Johnson-syndroom. Dit is een vrij onschuldig ziektebeeld, waarbij de patiënt door een verhoogde bloedconcentratie van de galkleurstof bilirubine een lichte vorm van geelzucht heeft. MRP2 zit namelijk niet alleen in niercellen, maar ook in levercellen, waar het onder meer verantwoordelijk is voor de actieve uitscheiding van bilirubine naar de gal. Opmerkelijk is dat de ratten die MRP2 missen een sterk verminderde galuitscheiding vertonen van verschillende geneesmiddelen, terwijl diezelfde middelen onverminderd actief in de urine worden uitgescheiden. Kennelijk beschikken niercellen in de luminale membraan over een pomp die kan compenseren voor het gemis van MRP2, en die niet in levercellen aanwezig is. Inderdaad ontdekten we kortgeleden tot onze grote vreugde een nieuw transporteiwit in de proximale tubuluscel, MRP4, een zusje van MRP2, dat precies aan alle voorwaarden voldoet.⁹

Hoewel MRP2 en MRP4 nauw aan elkaar verwant zijn, zijn er wel degelijk verschillen in structuur. Vergelijking van de aminozuren waaruit de eiwitten zijn opgebouwd, levert zelfs maar een overeenkomst van 35% op. Toch zijn ze in staat om voor elkaar in te vallen bij het transport van een aantal geneesmiddelen. Het bestuderen van de verschillen en overeenkomsten in transportfunctie tussen beide pompen, geeft inzicht in de rol die ze spelen in de uitscheiding van lichaamsvreemde stoffen. Dankzij moderne technieken uit de moleculaire biologie en celbiologie is het mogelijk om MRP2 en MRP4 in grote hoeveelheden in de reageerbuis te maken en de moleculaire mechanismen van transport afzonderlijk van

elkaar te bestuderen. We gebruiken hiervoor gekweekte cellen van de mot die we infecteren met een virus dat het DNA van het transporteiwit bij zich draagt. MRP2 hebben we zo uitvoerig onderzocht en we vonden dat deze pomp nog veel veelzijdiger is dan gedacht werd. In aanwezigheid van glutathion, een stof die van nature in hoge concentraties in nier- en levercellen voorkomt, blijkt MRP2 zelfs bepaalde organische kationen, zoals het antikankermiddel vinblastine te transporteren.¹⁰ Een opmerkelijke prestatie voor een anionpomp!

De eigenschappen van MRP4 hopen we binnenkort op dezelfde manier in kaart te brengen. Onderzoekers aan de universiteit van Memphis in Tennessee hebben vorig jaar ontdekt dat MRP4 in witte bloedcellen voorkomt en daar antivirale middelen naar buiten pompt, zoals cidofovir en azidothymidine, beter bekend als AZT.¹¹ AZT is een middel tegen het humane immunodeficiëntievirus (HIV) dat bij de mens AIDS veroorzaakt. Aangezien dit virus zich ophoudt in witte bloedcellen, zorgt MRP4 voor een ongewenste resistentie voor AZT. De hoeveelheid MRP4 die zich in de membranen van witte bloedcellen bevindt, verschilt aanzienlijk tussen individuen. Dat geldt zowel voor patiënten die geïnfecteerd zijn met HIV als voor niet-geïnfecteerden. Wanneer dezelfde variatie zich ook voordoet in niercellen, kan dit betekenen dat HIV-patiënten met een gering gehalte aan MRP4 in witte bloedcellen weliswaar beter reageren op anti-HIV-middelen, maar dat ze extra gevoelig zijn voor nefrotoxiciteit, omdat de niercel deze middelen minder goed naar de urine kan pompen.

Voorschrijven met vastere hand

HET VOORGAANDE VOORBEELD raakt aan een fundamentele vraag in de geneeskunde: waarom patiënten met precies dezelfde ziekteverschijnselen toch zo verschillend reageren op hetzelfde geneesmiddel? Het antwoord op die vraag ligt voor een belangrijk deel verborgen in de ongeveer 3 miljard basenparen, de DNA-eenheden, die tezamen het geheel aan erfelijke informatie van een mens bepalen. Een eerste ruwe versie van het menselijk genoom is in juni van dit jaar met groot vertoon wereldkundig gemaakt. Ongeveer 90% van de volgorde van het DNA is vastgesteld, maar deze informatie is op zich nog vrij betekenisloos en dient eerst ontgonnen te worden. Zo is er bijvoorbeeld

nog grote onzekerheid over het aantal genen, de kleinste DNA-fragmenten die een volledige instructie bevatten voor het maken van een eiwit. Minder dan 5% van het DNA is gen. De schattingen over het totale aantal genen variëren tussen de 35.000 en 120.000, en genetici denken nog tot 2003 nodig te hebben om daar zekerheid over te krijgen. Tot die tijd is het voor goklustigen mogelijk om op het internet voor enkele dollars mee te wedden op het juiste aantal.¹² Tot nu toe zijn er circa 75 genen gevonden voor eiwitten die organische anionen of kationen transporteren; 47 daarvan behoren tot de familie van ABC-transporters.¹³ Op basis van berekeningen aan het genoom van lagere modelorganismen, zoals het bakkersgist en het wormpje *C. elegans*, zal dit aantal uitkomen op zo'n 200.¹⁴ Maar vanwege de grote onzekerheid over het aantal menselijke genen is dit nog maar een ruwe schatting.

De genomen van mensen komen voor 99.9% overeen. Dat zou je misschien niet zeggen als je zo om je heen kijkt. Geen mens is hetzelfde, hoewel sommigen hun best doen om via uiterlijk en gewoonten wat meer op elkaar te lijken dan anderen. Een treffend voorbeeld daarvan kunt u vandaag zien aan mij en mijn collega's om me heen verzameld. Toch is 0.1% verschil nog altijd goed voor zo'n 3 miljoen verschillen op DNA-niveau. Het is deze variatie die maakt dat sommige geneesmiddelen bij een deel van de patiënten niet of minder goed werken, of zelfs ernstige bijwerkingen oproepen. In de Verenigde Staten is sterfte als gevolg van bijwerkingen van geneesmiddelen de vierde doodsoorzaak. In Nederland zijn daar geen exacte cijfers over bekend, maar het zal bij ons niet veel anders zijn. Veel van de fatale reacties berusten op een genetisch bepaalde overgevoeligheid voor het geneesmiddel. Dat kan variatie zijn in de genen voor eiwitten die betrokken zijn bij de omzetting, het transport, of de werking van het geneesmiddel.¹⁵

Tot nu toe is de aandacht vooral gericht op de verschillen in omzetting of biotransformatie van geneesmiddelen, omdat daar het meest over bekend is. Kleine verschillen in de genen voor enzymen betrokken bij de ontgiftiging leiden tot meerdere vormen van deze eiwitten (polymorfismen), die net iets van elkaar afwijken, maar die soms grote verschillen vertonen in omzettingsactiviteit. Op grond van deze verschillen kunnen patiënten worden verdeeld in snelle en langzame omzetters. Bij een snelle omzetter zal de standaarddosis van een geneesmiddel niet voldoende werkzaam zijn, terwijl bij een langzame omzetter de kans op schadelijke bijwerkingen groot is. Dit vraagt om een behandeling op maat, waarbij de hoogte van de

dosering en zelfs de keuze van het geneesmiddel, afgestemd wordt op het genetisch profiel van de patiënt. Op dit moment wordt daar nog vrijwel geen rekening mee gehouden, ook al zijn sommige polymorfismen meer dan 15 jaar bekend. Maar dat gaat snel veranderen. Methoden om variaties in een groot aantal genen van een individuele patiënt op te sporen met zogenaamde DNA-chips worden steeds toegankelijker en zullen de arts uiteindelijk een vastere hand verschaffen bij het voorschrijven. Over niet al te lange tijd kan een arts aan de hand van een beetje bloed of weefsel de genetische opmaak van zijn patiënt vaststellen en daar de keuze en dosering van bepaalde geneesmiddelen op afstemmen. Ook de farmaceutische industrie zal steeds meer overgaan, en wellicht in de toekomst verplicht worden, tot het genotyperen van proefpersonen en patiënten die deelnemen aan klinisch geneesmiddelenonderzoek.

Over genetische variatie in transporteiwitten is nog vrijwel niets bekend. Dit komt omdat de meeste transporters veel later ontdekt zijn dan de ontgiftende enzymen en daarom moleculair nog niet zo goed gekarakteriseerd zijn. Hier ligt nog een belangrijk onderzoeksterrein braak. In maart van dit jaar hebben farmacogenetici en klinisch farmacologen uit Duitsland het eerste polymorfisme voor een geneesmiddelpomp beschreven, en wel voor P-glycoproteïne in de darm.¹⁶ Bij een aantal proefpersonen werd een duidelijk verband gevonden tussen een polymorfisme in het gen voor P-glycoproteïne en de hoeveelheid en activiteit van de pomp in darmcellen. Draggers van dit polymorfisme hebben minder transporters tot hun beschikking, die ook nog minder actief werken. Geneesmiddelen die slecht uit het darmkanaal worden opgenomen omdat ze door P-glycoproteïne worden teruggepompt, zullen bij deze personen gemakkelijker in het bloed terechtkomen en veel hogere concentraties in het lichaam bereiken. Voor de nier betekent een dergelijk polymorfisme een grotere gevoeligheid voor schadelijke effecten van nefrotoxische middelen die door P-glycoproteïne actief worden uitgescheiden.

Dat geldt bijvoorbeeld voor ciclosporine, een geneesmiddel dat bij transplantatiepatiënten wordt gebruikt om de afstotingsreactie van het lichaam te onderdrukken. Ciclosporine is een schimmelproduct met een krachtige onderdrukkende werking op het menselijk immuunsysteem. Daarnaast is het vooral bij hoge bloedconcentraties behoorlijk schadelijk voor de nier. Zeker bij patiënten die een niertransplantatie hebben ondergaan is dit een extra complicerende factor. Bekend is dat bij deze patiënten de hoeveelheid P-glycoproteïne in de darm met een factor 8 kan

variëren.¹⁷ Hierdoor is de opname van ciclosporine uit het darmkanaal variabel en hebben patiënten met het minste aantal pompen de hoogste bloedconcentraties, en dus de grootste kans op nefrotoxiciteit. Niet bekend is of dezelfde variatie in aantal pompen zich ook in niercellen voordoet. Als dit het geval is dan lopen de patiënten met de minste transporters nog een extra risico, omdat hun niercellen het minst zijn beschermd. P-glycoproteïne zorgt namelijk voor de actieve verwijdering van ciclosporine uit de cellen naar de urine.

Variatie in de effectiviteit en toxiciteit van geneesmiddelen is natuurlijk nooit alleen een kwestie van genetische variatie, maar van het samenspel tussen genen en omgeving. We zijn niet alleen wat onze genen kunnen, maar ook waar we ze toe uitdagen via eten, drinken, omgeving en gedrag. Inclusief de geneesmiddelen of toxische stoffen waar we aan blootgesteld worden. De ongevoeligheid die kankercellen voor cytostatica kunnen ontwikkelen onder invloed van deze middelen, is daar een pijnlijk voorbeeld van.

De stormachtige ontwikkelingen in het genoomonderzoek zullen de komende decennia ook een zware stempel drukken op de farmacologie en toxicologie. Nadat alle genen in kaart gebracht zijn is een volgende nog veel omvangrijkere stap om de moleculaire eigenschappen en polymorfismen van alle transporteiwitten, ontgiftende enzymen, en receptoren, te karakteriseren. Uiteindelijk moet deze kennis inzicht geven in hoe geneesmiddelen en toxische stoffen een individu tot op moleculair niveau beïnvloeden. Pas dan is een op maat gesneden geneesmiddeltherapie mogelijk en een individuele beoordeling van de risico's die blootstelling aan toxische stoffen met zich meebrengt.

Om dit doel te bereiken ligt de grootste uitdaging in de integratie van de moleculaire kennis over afzonderlijke genen en eiwitten in de complexe processen die het functioneren van cellen, organen en het lichaam bepalen. Terugkijkend op het niermodel, waar ik mijn promotieonderzoek mee begon, betekent dit dat kennis over aantal, activiteit, specificiteit en regulatie van alle afzonderlijke transporteiwitten in de niercel tot een samenhangend geheel bijeengebracht moet worden, om tot een zo compleet mogelijk inzicht te komen van de actieve uitscheiding van geneesmiddelen. Een formidabele uitdaging, waarvan ik de essentie zou willen samenvatten met een vrije vertaling van de dichtregels van Goethe, die ik als motto voor mijn rede heb gekozen: "Wil het geheel je kunnen

verrijken, dan is het nodig om het geheel tot in de kleinste details te bekijken”.

Medicijn en venijn in het onderwijs

AN HET LAATSTE DEEL van mijn rede gekomen wil ik graag een paar woorden wijden aan het onderwijs. Hoewel mijn leerstoel primair is ingesteld om onderzoek te verrichten op het gebied van de farmacologie en toxicologie van transportprocessen, besteed ik ruim 60% van mijn tijd aan het geven van onderwijs. Dat is misschien wat veel voor een hoogleraar die zich vooral in het onderzoek moet profileren, maar ik doe dat met groot plezier en overtuiging. Met plezier, vanwege de verfrissende interactie met een breed scala aan studenten van de medische faculteit en de faculteit natuurwetenschappen, wiskunde en informatica. Met overtuiging, omdat farmacologie en toxicologie in de opleiding en de latere beroepsuitoefening van veel van deze studenten een belangrijke rol spelen. De vakgebieden farmacologie en toxicologie stoelen beide op dezelfde basisprincipes en in de Nijmeegse traditie zelfs op dezelfde stamvader, de hoogleraar Ariëns. Hij wist als geen ander deze principes wereldwijd toegankelijk te maken. Veel van zijn onderwijsconcepten zijn in de moderne studieboeken terug te vinden en zijn nog steeds bruikbaar, ook in het huidige probleemgeoriënteerde onderwijs.

Uit mijn voorgaande betoog mag duidelijk zijn geworden dat het een belangrijke taak is om toekomstige artsen een vaste hand van voorschrijven bij te brengen. Het voorschrijven van geneesmiddelen is nog steeds een van de meest ingrijpende medische handelingen die een arts bij zijn patiënten verricht. Eén op de twee patiënten verlaat de huisarts met een recept en bij een bezoek aan de specialist ligt dat aantal nog hoger. We moeten dan ook voortdurend alert zijn in de scholing en nascholing van artsen en tandartsen dat zij voldoende toegerust zijn, en blijven, om de geneesmiddelen van vandaag en morgen adequaat toe te passen. Binnen de opleiding biomedische wetenschappen is er veel belangstelling voor het bijvak geneesmiddelenonderzoek en de afstudeerrichting toxicologie. De maatschappelijke behoefte aan breedopgeleide geneesmiddelenonderzoekers en toxicologen is in de laatste jaren sterk

gegroeid. Innovatief geneesmiddelenonderzoek is in Nederland een belangrijk speerpunt van overheid, universiteiten en farmaceutische industrie. Op alle plaatsen in de samenleving wordt een toenemend beroep gedaan op toxicologen om de stroom aan nieuwe chemische producten, geneesmiddelen en voedingsmiddelen te onderzoeken en op hun veiligheid te beoordelen.

Met mijn dubbelbenoeming bij de subfaculteit scheikunde is de traditie in ere hersteld dat scheikundestudenten een hoofdvak kunnen doen in zowel de farmacologie als toxicologie. In weinig vakgebieden is de brug tussen chemie en geneeskunde zo evident als in de farmacologie en toxicologie, waar de gewenste en ongewenste interacties tussen chemische verbindingen en de mens centraal staan. Als natuurwetenschapper voel ik mij betrokken bij de problematiek dat er helaas nog maar zo weinig middelbare scholieren zijn die zich aangetrokken voelen tot de scheikundestudie, en een bèta-opleiding in het algemeen. In de keuzemotieven van de huidige studenten herken ik veel van mijn eigen motieven om indertijd farmacie te gaan studeren. Voor mij was die opleiding zo aantrekkelijk vanwege de combinatie van scheikunde, natuurkunde, biologie en geneeskunde; disciplines die ik allemaal interessant vond en waar ik moeilijk uit kon kiezen. In de slag om de student is het van groot belang in te spelen op de verschuivende belangstelling naar multidisciplinaire opleidingen. De interfacultaire studierichting moleculaire levenswetenschappen, die dit studiejaar van start is gegaan en waar ik nauw bij betrokken ben, is een van de initiatieven die op die nieuwe behoefte inspeelt. Maar de gezamenlijke wervende kracht van de medische faculteit en de bèta-faculteit kan wellicht nog veel sterker zijn in een breed opgezette biomedisch-wetenschappelijke basisopleiding, van waaruit studenten zich in een groot aantal disciplines kunnen specialiseren, variërend van de fundamentele natuurwetenschappen tot toegepaste biomedische vakken. De plannen hiervoor zijn in ontwikkeling en ik zal me daar graag sterk voor maken.

Dankwoord

MIJNHEER DE RECTOR, DAMES EN HEREN, mijn rede zou ik graag willen besluiten met het uitspreken van enkele persoonlijke woorden en woorden van dank. Het College van Bestuur en de Commissie van Advies en Toezicht van deze universiteit, alsmede de Raad van Bestuur van het Universitair Medisch Centrum St Radboud, het Bestuur van de Faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica en het Bestuur van de Subfaculteit Scheikunde dank ik voor mijn benoeming en het in mij gestelde vertrouwen. Mijn leeropdracht beweegt zich op het grensvlak van de medische wetenschappen en de natuurwetenschappen en het is eervol om de farmacologie en toxicologie in beide faculteiten te mogen uitdragen.

Synergie is een kernbegrip in mijn vakgebied, en betekent een verhoogde effectiviteit door de combinatie van twee middelen. De plannen waarmee onze universiteit werkt aan een versteviging van de synergie tussen medisch en natuurwetenschappelijk onderzoek en onderwijs, zijn uniek voor Nederland. Een mijlpaal is de prachtig nieuwe onderzoeksfaciliteit, de Researchtoren, waarin vanaf volgende week onderzoeksgroepen van beide faculteiten gaan samenwerken onder de vlag van het Nijmegen Center for Molecular Life Sciences. Ik beschouw het als een voorrecht om met mijn groep deel uit te maken van dit multidisciplinaire samenwerkingsverband.

De persoon die de grootste invloed op mijn wetenschappelijke loopbaan heeft gehad en die mij deze dag eens lang geleden heeft voorspeld moet ik, en anderen met mij, vandaag node missen. Het is nu tien jaar geleden dat mijn leermeester, PROF.DR. CEES VAN GINNEKEN, op de terugweg van deze aula naar de afdeling, onverwachts geveld werd en op slechts 44-jarige leeftijd overleed. Voor mij kwam er zo een abrupt einde aan een zorgeloos bestaan als pas gepromoveerd onderzoeker en aan een bijzondere band met een briljant wetenschapper en innemend mens. Maar veel erger was, dat het geluk van een jong gezin wreed werd verstoord. Cécile, Hubrecht en Ewout, ik heb groot respect voor de kracht en de moed waarmee jullie je leven weer opnieuw inhoud hebben gegeven. De wijze waarop jullie je talenten en al het goede dat jullie van Cees hebben meegekregen, in zijn gedachte verder hebben ontwikkeld, is voor mij altijd een voorbeeld

geweest. Zo vervult het mij vandaag met trots dat ik in zijn voetsporen mag treden, en dat zijn wetenschappelijke gedachtegoed met mij een vervolg heeft gekregen.

HOOGGELEERDE GRIBNAU, BESTE FRANK. De ruimte die je me gaf na het overlijden van Cees om de afdeling te leiden heb ik zeer gewaardeerd. Je vertrek naar de Raad van Bestuur in 1992 maakte dat we geen uitvoering meer konden geven aan onze plannen tot een wederopbouw van de afdeling. Uiteindelijk is er toch veel terecht gekomen van wat we toen gehoopt hadden. De vele gesprekken die ik met je heb gevoerd op je bestuurskamer op de vijfde verdieping, beschouw ik nog steeds als wijze lessen. Van je vermogen om problemen op te lossen - lichtvoetig, maar altijd met de juiste diepgang - heb ik veel geleerd.

HOOGGELEERDE SMITS, BESTE PAUL. Je benoeming in 1995 ging bepaald niet zonder slag of stoot. Maar je hebt laten zien dat een open vizier en het leveren van goed werk, het beste antwoord op kritiek is. Je kwam met respect voor de moeilijke periode die de afdeling had doorgemaakt, en je hebt met veel elan gezorgd voor de bloeiperiode waar we nu in terecht zijn gekomen. Het is indrukwekkend om te zien hoe je je vele taken zo goed weet te combineren en op hoog niveau uitoefent. Dankzij je vriendschappelijkheid en wetenschappelijke scherpzinnigheid, is het voor mij een groot plezier om met je samen te werken. Vanuit je overtuiging dat prekliniek en kliniek zoveel mogelijk geïntegreerd moeten zijn - zeker in ons vakgebied - was je vanaf het eerste moment een warm pleitbezorger voor de leerstoel die ik vandaag aanvaard. Zonder jouw inspanningen was die er zeker niet gekomen. Dat onze wegen zich met mijn vertrek naar de researchtoren lijken te scheiden is maar schijn. In de afgelopen jaren zijn onze onderzoeksactiviteiten steeds meer verweven geraakt, en vanuit mijn nieuwe werkplek zullen de mogelijkheden alleen maar beter worden om het fundament onder onze synergie verder te versterken.

ZEERGELEERDE MASEREEUW, BESTE ROOS, ZEERGELEERDE VAN AUBEL, BESTE RÉMON. Veel van de fraaie resultaten die ik zojuist aan het publiek heb laten zien, zijn voortgekomen uit jullie werk. Het laatste overzichtsartikel dat we samen over ons boeiende onderzoek in het *American Journal of Physiology*⁵ hebben geschreven, heeft wekenlang op de eerste plaats geprikt van de top-50 van meestgelezen artikelen. Ik

verheug me erop dat het cellulaire en moleculaire transportwerk nu dicht bij elkaar komen in de researchtoren, en ik hoop in de toekomst nog veel nieuwe onderzoeksplannen met jullie te bedenken en uit te voeren.

Beste Roos, een bijzonder woord van dank aan jou is zeker op zijn plaats. Jij bent mijn steun en toeverlaat geworden en hebt me vooral het laatste jaar veel werk uit handen genomen. Je bent bovendien een ware ambassadrice voor de afdeling, en het is niet helemaal zonder trots als ik zeg dat ik het geweldig vind, om te zien hoe goed je je de laatste jaren hebt ontwikkeld als zelfstandig onderzoeker.

ZEERGELEERDE BOS, BESTE ROB, ZEERGELEERDE COPIUS PEEREBOOM-
STEGEMAN, BESTE JENNY. Jullie bepalen in belangrijke mate het gezicht van de toxicologie binnen de opleiding biomedische wetenschappen. Dat veel studenten enthousiast zijn geworden voor deze afstudeerrichting en met succes een goede bestemming op de arbeidsmarkt hebben gevonden is een grote verdienste. Jullie loyaliteit met mijn benoeming waardeer ik zeer en ik hoop jullie te steunen bij de invulling van nieuw onderwijs in het kader van de uitbreiding van het curriculum naar vijf jaar.

DAMES EN HEREN, MEDEWERKERS VAN DE AFDELING FARMACOLOGIE-
TOXICOLOGIE. Met velen van u werk ik al samen sinds mijn promotietijd en deel ik de herinneringen aan de bewogen periodes die we sindsdien samen hebben doorgemaakt. Jullie steun en collegialiteit zijn voor mij altijd bepalend geweest om ook in mindere tijden de overtuiging te bewaren om door te gaan op de ingeslagen weg. Fons Wouterse wil ik in het bijzonder noemen, omdat hij me vanaf het eerste uur in mijn onderzoek heeft bijgestaan, en dat nog steeds op voortreffelijke wijze doet.

DAMES EN HEREN, MEDEWERKERS VAN DE AFDELINGEN BIOCHEMIE EN
CELFYSIOLOGIE. De samenwerking met u heeft voor ons nieuwe mogelijkheden geopend om de moleculaire eigenschappen van transporteiwitten te bestuderen. Ik ben u zeer erkentelijk voor het gastvrije onderdak dat we de afgelopen jaren bij u in het Trigon-gebouw mochten hebben, en ik kijk uit naar onze gezamenlijke nieuwe locatie op de zevende verdieping van de researchtoren. De dozen zijn gepakt, vanavond is het feest, en maandagochtend gaan we samen op hoog niveau van start!

LIEVE OUDERS. Het vervult me met grote vreugde en dankbaarheid dat ik dit bijzondere moment met jullie, samen met Albert en Noor, kan delen. Mijn schoonouders herdenk ik met respect voor hun warme belangstelling en steun; ik weet me vandaag ook verzekerd van hún trots. Soms, als ik jullie met Stefan en Erwin bezig zie, beleef ik in een flits van herkenning en weemoed weer die vele gelukkige momenten uit mijn eigen jeugd, die me eens te meer doen beseffen hoe bepalend die zijn geweest voor wat ik vandaag heb bereikt.

LIEVE EEKE, STEFAN EN ERWIN. Aan jullie ontleen ik de waarde van mijn bestaan. Dankbaar ben ik voor het geluk, de liefde, de avonturen, de vrolijkheid en geborgenheid die ik elke dag met jullie beleef, en die voor mij een onuitputtelijke bron van inspiratie zijn. Eeke, voor het verrijken ‘van het geheel’ van mijn leven, voor het inzicht dat je me hebt gegeven om ook weer niet te veel op details te letten, voor het vinden van het juiste evenwicht tussen werk en gezin, en als dat weer eens wat minder goed lukte, voor je liefdevolle begrip. En tot slot, Stefan en Erwin. Papa’s spreekbeurt is bijna voorbij. Wat ik nu nog ga zeggen en wat ik allemaal heb gezegd, moeten jullie later, als je wat groter bent, nog maar eens nalezen. Voor mij, zijn jullie onvoorwaardelijke liefde, speelsheid, en onbevangen nieuwsgierigheid, het allermooiste dat een vader en een professor zich kan wensen.

Ik heb gezegd.

Literatuur

1. Beyer KH, Russo FH, Tillson EK, Miller AK, Verwey WF, Gass SR. 'Benemid', *p*-(di-*n*-propylsulfamyl)-benzoic acid: Its renal affinity and its elimination. *Am J Physiol* 1951;166:625-640.
2. Russel FGM, Wouterse AC, Van Ginneken CAM. Physiologically based kidney model for the renal clearance of salicylic acid and the interaction with phenolsulfonphthalein. *Drug Metab Dispos* 1987;15:695-701.
3. Cox PGF, Moons WM, Russel FGM, Van Ginneken CAM. Renal handling of salicylic acid in the isolated perfused rat kidney: evidence for accumulation in tubular cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1989;251:750-55.
4. Sekine T, Cha SH, Endou H. The multispecific organic anion transporter (OAT) family. *Pflügers Arch* 2000;440:337-50.
5. Van Aubel RAMH, Masereeuw R, Russel FGM. Molecular pharmacology of renal organic anion transport. *Am J Physiol Renal Physiol* [invited review] 2000;279:F216-F232.
6. Masereeuw R, Van den Bergh EJ, Bindels RJM, Russel FGM. Characterization of fluorescein transport in isolated proximal tubular cells of the rat: evidence for mitochondrial accumulation. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;269:1261-1267.
7. Masereeuw R, Terlouw SA, van Aubel RAMH, Russel FGM, Miller DS. Endothelin B receptor-mediated regulation of ATP-driven drug secretion in renal proximal tubule. *Mol Pharmacol* 2000;57:59-67.
8. Inui KI, Masuda S, Saito H. Cellular and molecular aspects of drug transport in the kidney. *Kidney Int* 2000;58:944-958.
9. Van Aubel RAMH, Smeets PHE, Peters JGP, Russel FGM. Submitted.
10. Van Aubel RAMH, Koenderink JB, Peters JG, Van Os CH, Russel FGM. Mechanisms and interaction of vinblastine and reduced glutathione transport in membrane vesicles by the rabbit multidrug resistance protein Mrp2 expressed in insect cells. *Mol Pharmacol* 1999;56:714-719.
11. Schuetz JD, Connelly MC, Sun D, Paibir SG, Flynn PM, Srinivas RV, Kumar A, Fridland A. MRP4: A previously unidentified factor in resistance to nucleoside-based antiviral drugs. *Nat Med* 1999;5:1048-1051.
12. <http://www.ensembl.org/genesweep.html>
13. <http://www.med.rug.nl/mdl/tab3.htm>
14. Amidon GL, Sadée W (eds.) Membrane transporters as drug targets. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 1999.
15. Van Everdingen JJE, Cohen AF, Feenstra GT (eds.). Ziekten maken en breken. Over farmacogenomie. Boom/Belvédère, Amsterdam, 1999.
16. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, John A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci* 2000;97:3473-3478.
17. Lown KS, Mayo RR, Leichtman AB, Hsiao HL, Turgeon K, Schmiedlin-Ren P., Brown MB, Guo W, Rossi SJ, Benet LZ, Watkins PB. Role of intestinal P-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporin. *Clin Pharmacol Ther* 1997;62:248-260.