

## Oratie

### Het humane knock-out-model: leerzaam tegen een hoge prijs

C. JACOBS

Rede uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar klinische chemie, in het bijzonder de metabole aandoeningen, aan de faculteit der Geneeskunde van de Vrije Universiteit Amsterdam / VU medisch centrum op 17 december 2003.

In voorbereiding op mijn oratie kwam ik bijgaand gedicht van Galileo Galilei (1) tegen en ik vond het om meerdere redenen passen in de persoonlijke als ook wetenschappelijke context van mijn verhaal. Nadat ik het zelf vertaald heb uit een Duitse vertaling van het

Italiaans zult u begrijpen dat een en ander niet meer rijmt. Ik wil u bovendien deelgenoot maken van mijn eerste stappen in mijn maatschappelijke en wetenschappelijke carrière, die begon in 1970.

#### Galileo Galilei, 1564 - 1642

« Contro il portar la toga »

Mi fan patir costoro il grande stento,  
Che vanno il sommo bene investigando,  
E per ancor non v'hanno dato dentro;

E mi vo col cervello immaginando,  
Che questa cosa solamente avviene  
Perche non e dove lo van cercando.

Questi dottor non l'han mai intesa bene,  
Mai sono entrati per buona via  
Che gli possa condurre al sommo bene.

Perche, secundo l'opinion mia,  
A chi vuole une cosa ritrovare,  
Bisogna adoperar la fantasia.

E giocar d'invenzione, e'ndovinare;  
E se tu non puoi ire a dirittura,  
Mill'altre vie ti posson aiutare.

Questo par che c'insegna la natura,  
Che quand'un non puo ir per l'ordinario,  
Va dret'a una strada piu sicura.

Lo stil dell'invenzione e molto vario;  
Ma per trovar il bene io ho provato  
Che bisogna proceder pel contrario;

Cerca del male, e l'hai bell'e trovato;  
Pero che 'l sommo bene e 'l sommo male  
S'appaion com'I polli di mercato.

« Tegen het toga dragen »

*Met groot verdriet vervullen me diegenen,  
die voortdurend naar het hoogste goed zoeken,  
en het tot nu toe niet gevonden hebben.*

*En als ik erover nadenk, lijkt mij,  
dat dit niet gebeurt  
omdat het niet daar is waar ze zoeken.*

*Deze doctoren hebben het nooit goed begrepen,  
zijn nooit de goede weg gegaan  
die hen tot het hoogste goed kan leiden.*

*Want naar mijn mening  
moet iemand die wat wil vinden,  
zijn fantasie gebruiken.*

*En met de ontdekking spelen en duiden,  
en lukt het niet rechtdoor,  
zo kunnen duizend andere wegen helpen.*

*Dit, lijkt mij, leert ons de natuur,  
wanneer iemand niet op de bekende weg vooruit komt,  
zoekt hij zich achterom een betere weg.*

*De kunst van het ontdekken is veelvoudig,  
echter om het goede te vinden moet men, heb ik ervaren,  
in de omgekeerde richting gaan.*

*Zoek het kwade, en reeds heb je het goede gevonden,  
want het hoogste goed en het hoogste kwaad  
paren zich als het gevederte op de markt.*

## West-Berlijn

Op 1 september 1970 vertrok de jonge ingenieur, Cornelis Jakobs, net afgestudeerd in Eindhoven in de scheikundige technologie, naar Berlijn. Het contact was gelegd door zijn Eindhovense begeleider, die een beroemde professor kende in Berlijn. Het doel van de ingenieur was om daar te promoveren. Hij had bovendien persoonlijke redenen, en hij was erg geïnteresseerd in de studentenpolitiek in West-Berlijn van die tijd, de beruchte eind-zestiger/begin-zeventigerjaren. Wat hij zich in het begin niet zo goed realiseerde was dat deze beroemde Duitse professor zich nog steeds bezig hield met pogingen om uit steenkolen benzine te maken (de zogenaamde Fischer-Tropsch-reactie). De eerste stap in deze reactie was de hydrogenering van CO, koolmonoxide, naar CH<sub>4</sub>, methaan, en het doel was het optimaliseren van deze reactie door de juiste keuze van de reactor, de katalysator en verblijftijden van de gassen in de reactor. Met een radioactieve tracer, namelijk met <sup>14</sup>C gemerkt CO, werd dit laatste gepoogd.

De jonge ingenieur had een indrukwekkende opstelling in elkaar gezet, en de eerste proeven verliepen voorspoedig. Op 8 februari 1972, de verjaardag van Dorothea, zijn vrouw (maar dit is toeval), ontstond er door een samenloop van omstandigheden, een brand in het laboratorium, die binnen een paar uur een enorme verwoesting aanrichtte. Het blussen van de brand verliep moeizaam omdat de brandweer vermoedde dat er een grote hoeveelheid radioactiviteit was vrijgekomen. Dit was onzin, omdat er ver onder de wettelijke limiet werd gewerkt. Bovendien was er nog het vermoeden dat dit een aanslag was waarbij mogelijk de Rote Armee Fraktion betrokken was. De ingenieur werd hierop door vele journalisten van de bekende Duitse boulevardbladen aangesproken. Het is niet ondenkbaar dat zijn uiterlijk hiertoe mede aanleiding gaf. Dezelfde verslaggevers hadden de volgende dag in de kranten spannende verslagen over “als raketten door de plafonds schietende gasflessen, die enkele tientallen meters verder weer terugvielen”, en over de risico's van het vrijkomen van grote hoeveelheden radioactiviteit. Dit was allemaal onzin, de brandende gasfles heeft zich niet van zijn plaats bewogen, en zoals gezegd, er werd ver onder de toegestane stralingslimiet gewerkt. Eerst was er sprake van miljoenen D-mark schade, maar ook dat viel later wel mee. De ingenieur was licht getraumatiseerd. Hij werd volledig vrijgesproken, maar kreeg de week daarop te horen dat de beroemde Duitse professor zijn financiële ondersteuning van de Hollandse onderzoeker had ingetrokken.

Met “het menselijke KO-model” in de titel van mijn oratie bedoel ik niet mijzelf, hoewel ik mij toen wel zo voelde. Ik heb nog een jaar lang gewerkt onder de bezielende leiding van de uit Tsjecho-Slowakije gevluchte professor Ralek, met wie ik het, wanneer het over politiek ging, volledig oneens was, maar voor wie ik een onnoemelijk respect had, dat wederzijds was. Hij heeft mij tot het laatste moment ondersteund, terwijl ik een nieuwe opstelling opbouwde, nu met een stabiele, niet stralende isotoop als tracer en een massaspectrometer als detectiesysteem. Een

en ander leidde tot een definitieve promotiedatum in Eindhoven in november 1973. Echter om in het onderhoud van mijn familie te voorzien had ik een andere baan aangenomen en mede daarom heb ik de promotie in Eindhoven maar laten zitten.

In mei 1973 was er een vacature in het kinderziekenhuis van de Vrije Universiteit in West-Berlijn. Er werd een chemicus gevraagd die een stofwisselingslaboratorium op moest gaan zetten, met als voorwaarde: kennis van massaspectrometrie en het gebruik van stabiele isotopen. Dat kwam goed uit; dat had ik, weliswaar nog niet al te veel. De keuze voor deze baan heeft mijn leven veranderd, iets waarvan ik nooit spijt heb gekregen. In plaats van een baan in de olie, nu een baan in de gezondheidszorg en de reden voor mijn aanwezigheid hier. Toeval, karma, of in VU-termen een leidende/ beschermende hand. U vult het zelf maar in.

Begin 1978, toen het laboratorium voor metabole ziekten aan de Vrije Universiteit West-Berlijn was opgebouwd, onderzocht ik de urine van een jongetje van 10 maanden met mentale en motorische retardatie, spraakachterstand, spierzwakte, en epilepsie. Ik vond grote hoeveelheden van een onbekende stof in de urine: gamma-hydroxyboterzuur (GHB). Nadat ik deze stof ook vond in bloed en hersenvocht, en ik voor de ophoping van deze stof in het lichaam van dit jongetje geen externe oorzaak kon vinden, was duidelijk dat er sprake was van een nieuwe erfelijke stofwisselingsziekte. De identificatie en kwantificering van GHB vond plaats met massaspectrometrie waarbij gebruik werd gemaakt van met stabiele isotopen gemerkte verbindingen. De begrippen erfelijke stofwisselingsziekten, stabiele isotopen en massaspectrometrie zult u als een rode draad in mijn presentatie terug zien komen.

## Erfelijke ziekten

Erfelijke, of genetische ziekten kunnen worden onderverdeeld in drie categorieën. De eerste categorie betreft de chromosoomafwijkingen, die veroorzaakt worden door een ontbreken, een teveel, of een afwijking aan een of meer chromosomen. De tweede categorie betreft die van de monogenetische defecten, die veroorzaakt worden door een defect in een enkel gen. De monogenetische ziekten worden vaak van de ouders geërfd volgens een eenvoudig overervingspatroon. De ziekten kunnen autosomaal dominant, autosomaal recessief of geslachtsgebonden overerven. De multifactorieel overervende ziekten vormen de derde categorie erfelijke ziekten. Hierbij leidt een samenspel van verschillende genvarianten en meerdere verschillende omgevingsfactoren tot het ontstaan van ziekteverschijnselen. Voorbeelden van multifactorieel overervende ziekten zijn bijv. diabetes mellitus, de ziekte van Alzheimer en een hazenlip. De grens tussen monogenetische en multifactoriële ziekten is niet scherp. Hoewel ook bij monogenetische ziekten meerdere genen mede het fenotype van de patiënt kunnen bepalen is het concept van de monogenetische ziekte nog steeds geldig. Het aantal bekende monogenetische ziekten ligt rond de 5000, en ongeveer 1% van alle pasgeborenen heeft een monogenetische ziekte.

## Erfelijke stofwisselingsziekten

Het menselijk lichaam is opgebouwd uit een groot aantal cellen die kunnen worden onderscheiden in verschillende typen, ieder met eigen kenmerken en functies. De functie van een hersencel is een andere dan die van een lever- of spiercel. Onder stofwisseling, of metabolisme, wordt de omzetting van een bepaalde stof, A, in een andere, B, en weer in de volgende, C, verstaan. Het omzetten van de ene stof in de andere verloopt over het algemeen niet spontaan. Voor de biochemische omzetting zijn eiwitten nodig, enzymen. Enzymen vervullen hun taak vaak met behulp van andere factoren, cofactoren, vaak vitaminen of mineralen. Met behulp van de enzymen en cofactoren worden stoffen in de cel in elkaar omgezet. Enerzijds gebeurt dit om uit de voeding nuttige verbindingen te vormen, anderzijds om schadelijke afvalproducten af te breken. Voor de totale stofwisseling beschikt de cel over een netwerk van duizenden nauwkeurig op elkaar afgestemde eiwitten. Als één of meerdere enzymen niet goed functioneren, verloopt de stofwisseling niet goed. Dit kan leiden tot een tekort aan een belangrijke stof of tot ophoping van schadelijke afvalstoffen. Dit geeft aanleiding tot ziekte, een stofwisselingsziekte.

Stofwisselingsziekten kunnen verworven zijn, bijvoorbeeld door vitaminegebrek, of reeds bij de geboorte aanwezig, dus aangeboren, zijn. Aangeboren stofwisselingsziekten worden vaak van de ouders overgeërfd, en zijn dan erfelijk. Een erfelijke stofwisselingsziekte is een voorbeeld van een monogenetische aandoening. De ziekte is het gevolg van een kleine afwijking in een specifiek stukje DNA, het gen, dat codeert voor een eiwit. De genafwijking heeft tot gevolg dat er één eiwit niet functioneert. De patiënt met een stofwisselingsziekte heeft duizenden normaal functionerende eiwitten, en één knock-out-eiwit. De ziekteverschijnselen van de patiënt zijn hier allemaal het gevolg van. Bestudering van deze ziekteverschijnselen en biochemische afwijkingen geeft inzicht in de functie van het defect eiwit.

Diagnostiek van erfelijke stofwisselingsziekten kan plaatsvinden op 3 niveaus.

Het is mogelijk om in lichaamsvloeistoffen van de patiënt, zoals urine, bloed of hersenvocht, de concentraties van allerlei stoffen te meten. Deze stoffen, intermediairen of metabolieten genoemd, zijn bij stof-

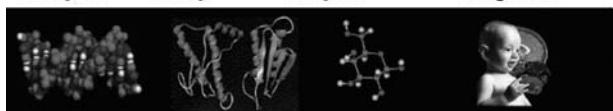
wisselingsziekten vaak in een afwijkende concentratie aanwezig. Afwijkingen in de concentraties van metabolieten geven een aanwijzing over het defecte eiwit. Het direct analyseren van de functie van het eiwit, bijv. een enzymreactie of transportactiviteit, is het tweede niveau waarop stofwisselingsonderzoek kan plaatsvinden. Het derde niveau is dat van het DNA-onderzoek, met het aantonen van een genmutatie als doel. Hoewel ik het belang van alle drie niveaus onderken, hetgeen wordt onderstreept door de recente uitbreidingen van het Metabool Laboratorium met enzym- en DNA-diagnostiek, wil ik mij in deze voordracht met name richten op metaboliëtonderzoek. In 1902 werd de eerst ontdekte stofwisselingsziekte beschreven. Nu, 100 jaar later, zijn er meer dan 1000 stofwisselingsziekten bekend. Het totale aantal omzettingen in de stofwisseling wordt geschat op 4000. Dit betekent dat slechts in 25% van alle mogelijke omzettingen, defecten bekend zijn. Er valt nog een hoop te ontdekken. Hierbij dient men zich te realiseren dat niet alle defecten verenigbaar zijn met het leven.

Als groep maken de erfelijke stofwisselingsziekten een substantieel deel uit van het totaal aantal ziekten dat zich op de kinderleeftijd presenteert. Afzonderlijk zijn de erfelijke stofwisselingsziekten zeldzaam. Hierdoor zijn stofwisselingsziekten bij veel mensen onbekend. De definitie van een zeldzame ziekte in Nederland is bepaald door Europese regelgeving. In Europa wordt een ziekte zeldzaam genoemd als niet meer dan 5 op de 10.000 inwoners in de EU deze aandoening hebben. Een ziekte is in Nederland dus zeldzaam als minder dan 8000 mensen aan deze ziekte lijden. De schatting van het aantal zeldzame aandoeningen in Nederland ligt tussen de 5000 en 8000. De 1000 verschillende stofwisselingsziekten vallen ook hieronder. Zeldzame aandoeningen komen per definitie weinig voor en mede hierdoor is er weinig aandacht voor patiënten met dit soort ziekten. De ziekten zijn als het ware wees, ze hebben geen ouders en hebben extra zorg nodig. In deze context spreekt men van orphan diseases - 'weesziekten'.

Zeldzame ziekten zijn vaak ernstige, levensbedreigende of chronisch invaliderende aandoeningen. De kwaliteit van leven van mensen met een zeldzame aandoening is vaak ernstig aangetast. De behoefte aan betere therapieën/ geneesmiddelen voor deze aandoeningen is daarom groot. Het aanbod van bestaande middelen voor diagnose, behandeling of preventie is nog beperkt, gebrekkig en te duur. Vanuit de voedings- en farmaceutische industrie was er relatief weinig belangstelling voor de zeldzame ziekten. Dit werd ten dele veroorzaakt doordat de ontwikkelings- en registratiekosten hoog zijn en de verwachte opbrengsten laag. Ook vanuit de politiek werd het wetenschappelijk onderzoek ten behoeve van deze ziekten financieel onvoldoende ondersteund, met het argument dat de maatschappelijke relevantie door de lage frequentie niet zo groot was. Hierin is gelukkig een kentering opgetreden. Op Europees niveau wordt er geld vrijgemaakt in het kader van het Europese 6<sup>e</sup>-kader-programma, een subsidieprogramma waarin geld gereserveerd wordt voor onderzoek aan zeldzame aandoeningen.

### diagnostiek van aangeboren stofwisselingsziekten

DNA	→ eiwit	→ producten	→ ziekte
mutatie	defect	afwezig of verhoogd	klinische verschijnselen
DNA- analyse	enzym- assay	metabolië- analyse	klinische diagnose



Figuur 1.

In 2001 is door minister Borst een Stuurgroep Weesgeneesmiddelen ingesteld. De opdracht aan de stuurgroep was het stimuleren van de ontwikkeling van weesgeneesmiddelen om de situatie van patiënten met een zeldzame ziekte te verbeteren. In 2000 is de Werkgroep Zeldzame Aandoeningen opgericht door de VSOP (Vereniging van Samenwerkende Ouders- en Patiëntenorganisaties) en de Chronisch Zieken en Gehandicapten Raad Nederland. In twee adviesrapporten, aan minister Borst in 2002, en in 2003 aan minister de Geus, wordt uitgegaan van het solidariteitsprincipe: mensen met een zeldzame aandoening hebben hetzelfde recht op adequate zorg en dezelfde kwaliteit van diagnostiek en behandeling (geneesmiddelen) als mensen met een meer algemeen voorkomende aandoening. Ik onderschrijf vanzelfsprekend dit advies. Patiënten met zeldzame aandoeningen en hun ouders en verzorgers betalen letterlijk en figuurlijk een hoge, een te hoge prijs. Maar zeldzame aandoeningen zijn leerzaam, en het onderzoek aan deze aandoeningen geeft antwoorden op vragen.

Belangrijke vragen in de geneeskunde zijn:

- a) wat is het probleem diagnose
- b) hoe is het gebeurd pathogenese
- c) wat is de oorzaak directe en uiteindelijke oorzaak
- d) hoe is het verloop prognose
- e) wat kunnen we eraan doen behandeling en preventie
- f) zal het weer gebeuren erfelijk risico van herhaling

Het onderzoek naar zeldzame erfelijke stofwisselingsziekten is niet alleen van groot belang voor patiënten met deze aandoening, maar heeft toepassing in een veel bredere context. Bij onderzoek naar humane ziekten wordt vaak gebruikt gemaakt van proefdieren. Deze dieren worden soms genetisch aangepast door een bepaald gen uit te schakelen. Zo wordt een knock-out-diermodel verkregen, een dier met een bepaalde genetische ziekte. Echter ook de menselijke patiënten die geboren worden met een erfelijke stofwisselingsziekte, door mij een beetje oneerbiedig het menselijke knock-out-model genoemd, kunnen ons zeer veel leren. Mijn stelling is dat onderzoek aan zeldzame erfelijke stofwisselingsziekten (of in de context van mijn voordracht: menselijke knock-out-modellen) leidt tot nieuwe ontdekkingen en inzichten in de biochemie, biologie, fysiologie, farmacologie en genetica die van cruciaal belang zijn voor alle aspecten van de geneeskunde. Ik wil in deze context twee wetenschappers citeren, elk in zijn eigen tijdsframe.

William Harvey, een Engelse doctor (1577–1657), de ontdekker van de bloedcirculatie en de rol van het hart hierin, en de grondlegger van de moderne fysiologie, schreef en ik citeer: “Nature prominently displays her secret mysteries in cases where she shows traces of her workings apart from the beaten path”.

“nor is there any better way to advance medicine than to give our minds to the discovery of the usual laws of Nature by careful study of rarer forms of the disease”.

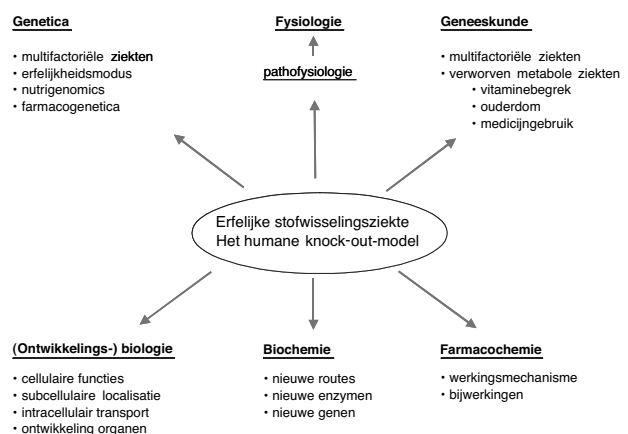
Het tweede citaat is van enkele maanden geleden en komt van prof. Gert Jan van Ommen (2), hoogleraar in de Humane Genetica te Leiden, en directeur van het Centrum voor Medical Systems Biology, waarin ook het VUmc participeert. Het is een van de 4 Genomics Centers of Excellence. Ik citeer:

“Veel van de tegenwoordige kennis van complexe ziekten en ook kanker komt uit de research van meer zeldzame ziekten. Dit zijn vaak monogenetische ziekten die erg goed kunnen dienen als model voor alle soorten complexere, meer ‘normale’ ziekten. Het belang van het onderzoek in zeldzame ziekten wordt niet voldoende erkend door politici en ‘policy-makers’. Het is bovendien onderzoek waarin Nederland excelleert. Ofschoon veel vakbroeders vaak praten over diermodellen voor menselijke ziekten, de ‘menselijke modellen’ zijn nog steeds de beste. De monogenetische ziekten moeten met nadruk deel blijven uitmaken van het onderzoek binnen de Medical Genomics Centers of Excellence”.

Om mijn stelling te onderbouwen, zal ik enkele voorbeelden geven. Met veel respect voor mijn collega’s zeg ik dat elk metabool centrum in Nederland zijn of haar eigen voorbeelden kan geven. Maar staat u me toe dat ik voorbeelden geef uit ons eigen laboratorium.

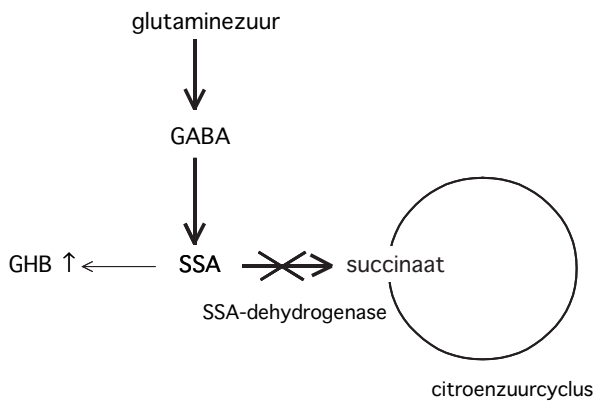
### Gamma-hydroxyboterzuur (GHB)

Als medicijn kwam GHB op de markt in 1960. GHB kan worden opgenomen door de hersenen en heeft een verdovende werking. Oorspronkelijk werd het toegepast voor anesthesie bij kinderen, maar het gebruik werd gestopt wegens de gebrekkige werking en de bijwerkingen, zoals bijvoorbeeld een verhoogde kans op het optreden van epilepsie. Tegenwoordig wordt GHB ingezet bij de behandeling van narcolepsie en tegen ontwenningverschijnselen bij alcohol- en opiumontnuchtering.



**Figuur 2.**





**Figuur 3.**

GHB wordt gebruikt als ‘party-drug’ en kent de bijnaam ‘liquid ecstasy’. Bijna ieder weekend komen bij de Nederlandse ziekenhuizen slachtoffers van GHB-intoxicatie binnen, die kampen met ademhalingsproblemen, een sterk verlaagde bloeddruk en epilepsie. Een lage dosis GHB leidt tot gevoelens van euforie bij de gebruiker, terwijl een hoge dosis leidt tot bewustzijnsverlies, spierzwakte en epilepsie. Enkele GHB-gebruikers zijn overleden aan een te hoge dosis GHB, die vaak in combinatie met een hoge dosis alcohol werd ingenomen.

Zoals aan het begin van mijn rede al verteld, vond ik in 1978, in Berlijn, een verhoogde concentratie van GHB in de urine van een jongetje van 10 maanden oud. Toen wij deze casus publiceerden, suggereerden we een defect in het enzym succinaat-semialdehyde-dehydrogenase (SSADH) (3).

Toen ik van 1980 - 1982 in San Diego werkte, ontmoette ik de promovendus Mike Gibson. Geïntregerd door onze patiënt met GHB liet hij zijn oude promotieproject in de steek en richtte zich op deze nieuw ontdekte ziekte. Sindsdien bestaat er een nauwe samenwerking tussen de onderzoeksgroep van inmiddels professor Mike Gibson en het Metabool Laboratorium van het VU medisch centrum. Dit heeft geleid tot de opheldering van het enzym- en gendefect (4).

SSADH-deficiëntie resulteert in stapeling van GHB. Er is sprake van een humaan knock-out-model met een chronische GHB-intoxicatie. Sinds de beschrijving van de eerste patiënt met SSADH-deficiëntie begin jaren 80, zijn er wereldwijd ongeveer 400 patiënten gediagnosticeerd. De belangrijkste verschijnselen van de ziekte zijn geestelijke en lichamelijke ontwikkelingsachterstand, spraakproblemen, spierzwakte, ataxie, epilepsie en gedragsproblemen (5). De behandeling van deze ziekte bestaat uit het anti-epilepticum vigabatrin, dat direct inwerkt op het GABA-metabolisme. Deze behandeling is echter verre van succesvol.

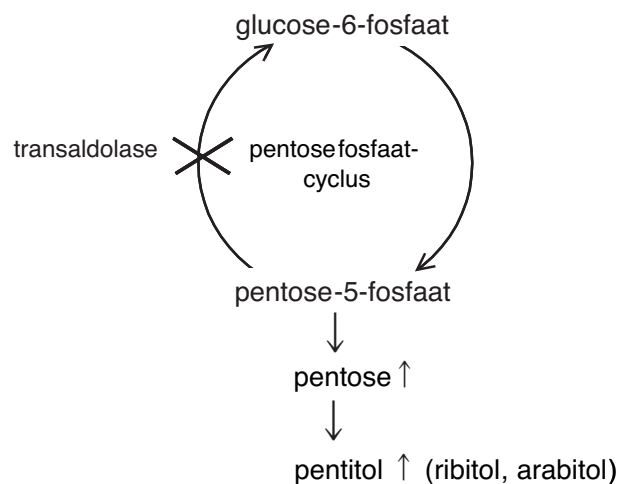
Het viel op dat jonge patiënten vaak een hogere spiegel aan GHB hadden, en klinisch verschilden van de oudere patiënten. De jongere waren hypotoon, hadden vaker epilepsie, en ataxie. De oudere hadden vaker psychoses en gedragsproblemen (hallucinaties, agressief en angstig gedrag), en hadden verschijnselen van autistisch gedrag. Het verschil in concentratie van GHB tussen de leeftijdscategorieën lijkt dus geassocieerd te zijn met de klinische presentatie, maar is nooit helemaal verklaard.

Onze hypothese dat GHB zelf een neurotransmitter is met een eigen receptor is intussen bevestigd. Het heeft bovendien invloed op de GABA-receptoren. Onderzoek van de hersenvloeistof van de patiënten toonde afwijkingen in verschillende stofwisselingsintermediären aan. Naast de verhogingen van GABA en GHB werden afwijkende concentraties glutamine, catecholamines, reactieve aldehyden en neurosteroiden gevonden. Al deze afwijkingen geven meer inzicht in het werkingsmechanisme van GHB in de hersenen.

De kennis opgedaan uit onderzoek aan deze ziekte, waarbij een enkel enzymdefect meerdere neurotransmittersystemen beïnvloedt, en waarbij de klinische effecten motorische, cognitieve, epileptische en psychiatrische afwijkingen omvatten, is enorm. Deze kennis zal niet alleen patiënten met SSADH-deficiëntie ten goede komen, maar zal ook van belang zijn bij de toepassing van GHB als medicijn, en voor behandeling van GHB-verslaafden.

### Polyolen

Polyolen zijn suikerachtige stoffen die voorkomen in alle levende organismen. In de mens zijn de concentraties polyolen erg laag, met de hoogste concentraties in de hersenen. Er is weinig bekend over de stofwisseling en de rol van polyolen in het menselijk lichaam. Men denkt dat de pentitolen, polyolen die zijn opgebouwd uit 5 koolstofatomen, gevormd worden uit suikerverbindingen van de pentosefosfaat route. In 1999 (8) publiceerde onze onderzoeksgroep over een 15-jarige jongen met neurologische afwijkingen, waaronder spasticiteit en epilepsie. De patiënt had progressieve afwijkingen van de witte stof van de hersenen. Bij onderzoek van de hersenen met spectroscopie zag prof. Marjo van der Knaap een tot dan toe onbekend signaal. Laboratoriumonderzoek van de hersenvloeistof toonde aan dat dit signaal werd veroorzaakt door 2 polyolen, arabitol en ribitol. Deze verbindingen werden ook in sterk verhoogde concentraties in het bloed en de urine van deze jongen aangetroffen, maar nergens waren de concentraties zo hoog als in de hersenen. Dit suggereert dat de polyolen in de hersenen worden gevormd.



**Figuur 4.**

In de jaren erna vonden wij twee andere patiënten met afwijkende concentraties van polyolen (9). Beide patiënten hadden leverproblemen: een vergrote lever en levercirrose. Bij beide meisjes vonden we in het laboratorium verhoogde concentraties van polyolen in urine. In het bloed en de hersenvloeistof waren ook licht afwijkende polyolconcentraties aanwezig, maar beduidend minder dan in urine. Dit suggereert dat bij deze meisjes de polyolen niet in de hersenen, maar bijvoorbeeld in de lever werden gevormd.

Met het oog op de hypothese dat de polyolen gevormd worden uit suikerverbindingen uit de pentosefosfaatroute hebben we in ons laboratorium methodes opgezet om de enzymen van deze route te meten. Toen we de methoden gebruikten om de cellen van beide meisjes te analyseren, vonden we bij beiden een defect in de pentosefosfaatroute: transaldolase-deficiëntie (9). Onderzoek van het DNA van de patiënten liet mutaties in het gen voor transaldolase zien. Door deze mutaties werkt het enzym transaldolase niet en ontstaat er een blokkade in de pentosefosfaatroute. Waarschijnlijk zijn de verhoogde polyolconcentraties hier het gevolg van.

Het vergelijken van de drie zojuist beschreven patiënten levert nieuwe inzichten op, maar zeker ook nieuwe vragen. De eerste patiënt, de 15-jarige jongen, had sterk verhoogde concentraties polyolen in zijn hersenen. Het lijkt erop, dat er bij hem een defect zit in een deel van de stofwisseling dat erg belangrijk is in hersenweefsel. De twee meisjes met transaldolase-deficiëntie hadden vrijwel normale polyolconcentraties in de hersenen. Dit suggereert dat een defect in transaldolase geen grote consequenties heeft voor het functioneren van de hersenen. Dit wordt onderbouwd door de afwezigheid van neurologische problemen of ontwikkelingsachterstand bij de twee meisjes met transaldolasedeficiëntie.

Wat veroorzaakt de schade aan hersenen en lever bij de patiënten? Een belangrijke mogelijkheid is, dat de polyolen, die in sterk verhoogde concentraties aanwezig zijn, toxisch zijn voor de cellen. Echter, er zijn nog verschillende andere mogelijkheden. Een defect in de pentosefosfaatroute kan meerdere consequenties hebben, zoals stapeling van suikers en suikerfosfaatverbindingen. Ook deze stoffen kunnen toxisch zijn en orgaanschade tot gevolg hebben.

Gericht onderzoek zal ons in de naaste toekomst moeten leren waar in het metabolisme polyolen worden gevormd en hoe zij worden getransporteerd en gereguleerd. Meer inzicht hierin zal waarschijnlijk leiden tot het diagnostiseren van meer patiënten met defecten in de stofwisseling van suikers en polyolen en een aanknopingspunt geven voor een gerichte behandeling.

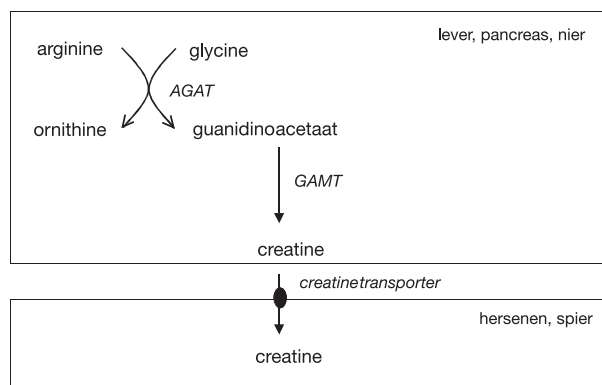
Met de ontdekking van erfelijke stofwisselingsziekten in het metabolisme van polyolen zijn weer belangrijke modelsystemen tot onze beschikking gekomen om de functie van enzymen in dit metabolisme te bestuderen. Te verwachten is, dat kennis over het polyolmetabolisme ons inzichten zal verschaffen op de gebieden van de biochemie, de pathofysiologie en de verworven ziekten, zoals diabetes mellitus, waarbij ook sterk verhoogde polyolconcentraties gevonden worden.

## Creatine

Een ander belangrijk voorbeeld van het verkrijgen van nieuwe inzichten door onderzoek aan het humane knock-out-model betreft de recent ontdekte creatine-deficiëntiesyndromen (10, 11). Vooral de ontdekking van het creatine transporter defect, door ons lab in samenwerking met prof. Ton de Grauw heeft het onderzoek naar creatine een grote impuls gegeven (12, 13). Creatine en fosfocreatine zijn belangrijk voor de opslag en transmissie van energie. Creatine is over het hele lichaam verdeeld, ongeveer 95% wordt echter gevonden in spieren en hart, en slechts 5% in de hersenen, lever en nier. Deze verdeling leidde er in het verleden toe dat creatine vooral werd geassocieerd met de spier, wat verklaart dat creatine als supplement vooral bij sportmensen en in de bodybuildergemeenschap grote bekendheid genoot.

Creatine in ons lichaam wordt constant gehouden door zowel biosynthese als door opname uit de voeding (vlees, vis). De biosynthese vindt voornamelijk plaats in de lever, pancreas en nier, via een tweestapsreactie. De eerste stap wordt gekatalyseerd door arginine: glycine-amidino-transferase (AGAT), en de tweede door guanidinoacetaat-methyltransferase (GAMT). Creatine wordt dan getransporteerd via de bloedstroom en wordt door de weefsels zoals spier en hersenen opgenomen via de creatinetransporter.

Prof. Ton de Grauw, ooit kinderarts aan het VUmc, nu directeur van een grote kinderneurologie afdeling in Cincinnati in de USA, zag in 2000 een jongen van 7 jaar, met een mentale ontwikkelingsachterstand en een spraak- en taalprobleem. Deze jongen leek een te groot hoofd te hebben, en dat was op dat moment de aanleiding om een MRS van de hersenen te maken. Hierbij werd de afwezigheid van creatine gezien, waardoor werd gedacht aan een creatinebiosynthesedefect. Ons lab was toen één van de weinige laboratoria in de wereld, waar in lichaamsvloeistoffen nauwkeurig naar de creatinemetabolieten gekeken kon worden. Urine van dit jongetje werd naar ons lab gestuurd. In tegenstelling tot de verwachtingen bleek uit het metabolietenprofiel dat er niets mis was met de synthese van creatine. Creatine in de urine bleek verhoogd in plaats van verlaagd. De diagnose kon nog niet worden gesteld. De volgende additionele overwegingen leidden uiteindelijk tot de diagnose: 1) tijdens de behandeling met creatine werd creatine niet

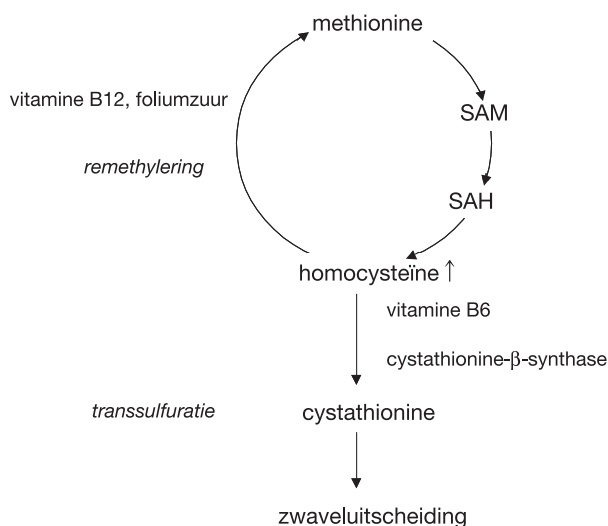


**Figuur 5.**

opgenomen door de hersenen, 2) bij twee mannen binnen de familie was sprake van een ernstige geestelijke handicap, terwijl drie vrouwen slechts milde leer- en gedragsproblemen bleken te hebben (dit suggereerde een geslachtsgebonden aandoening) en 3) er bleek op het X-(geslachts)chromosoom een gen te liggen dat codeert voor een creatinetransporter. Inderdaad bleek het jongetje een defect in de creatinetransporter te hebben. Zijn moeder, oma en tante waren drager van het defect, maar door de aanwezigheid van ook een goede genkopie, gelegen op het andere X-chromosoom, hadden zij slechts gedrags- en leerproblemen. Mannen hebben namelijk maar één X-chromosoom, waardoor bij hen in het geval van een dergelijke aandoening een ernstiger klinisch beeld ontstaat dan bij vrouwen. Voor de ontrafeling van deze ziekte op moleculair niveau heeft dr. Gajja Salomons, werkzaam in mijn laboratorium, de Europese Horst Bickelprijs ontvangen. Inmiddels doen twee junioronderzoekers onderzoek naar de frequentie van deze aandoening. Er zijn aanwijzingen dat, in tegenstelling tot veel andere erfelijke stofwisselingsziekten, het een relatief frequent voorkomende erfelijke aandoening betreft, die vooral bij mannen tot een onbegrepen geestelijke handicap leidt. Vooralsnog is onverklaard waarom de patiënten met een creatine-deficiëntie vooral aan hersenen gerelateerde problemen vertonen. Creatine werd vooral gedacht belangrijk te zijn voor de spieren en het hart, maar eigenlijk zijn deze organen nauwelijks aangedaan. Vervolgonderzoek in samenwerking met Cincinnati en de onderzoeksschool ICEN in materiaal van patiënten, zoals huid- en spiercellen, zal verder inzicht geven in de functie van creatine, de creatinesynthese en creatinetransportereiwitten.

### Homocysteïne

Ook met het laatste voorbeeld, hyperhomocysteïnemie, ofwel verhoogde spiegels van homocysteïne in het bloed, zal ik illustreren dat het bestuderen van het zeldzame humane knock-out-model kan leiden tot belangrijke intellectuele inzichten en praktische voordelen.



**Figuur 6.**

Homocysteïne is een aminozuur met een belangrijke rol in het metabolisme van een ander essentieel aminozuur, methionine. Homocysteïne bevindt zich op een kruispunt van twee metabole wegen: de transsulfuratie en de remethylering. De transsulfuratie route voor de afbraak van homocysteïne, leidend tot de vorming van cystathionine, en uiteindelijk tot de uitscheiding van zwavel, en de remethylering van homocysteïne naar methionine met behoud van het koolstofskelet. Verschillende cofactoren spelen een rol in dit metabolisme, namelijk vitamine B6, vitamine B12, en vitamine B11 (foliumzuur). De aangeboren stofwisselingsziekten die leiden tot homocystinurie bevinden zich in een van de twee mogelijke metabole routes.

Tussen 1960 en 1965 beschreven Carson en Mudd (14, 15) de eerste patiënten met een defect in de transsulfuratie route als gevolg van een defect in het enzym cystathionine- $\beta$ -synthase. Belangrijke klinische verschijnselen bij deze patiënten waren dislocatie van de lenzen, skeletafwijkingen, een zekere mate van mentale achterstand en hart- en vaatziekten die vaak de oorzaak waren van vroegtijdig overlijden.

Rond 1970 beschreef Mudd (16) het tweede defect met hyperhomocystinurie. Dit defect in de remethyleringsroute ging gepaard met ernstige mentale retardatie en ernstige vasculaire problemen. Het patiëntje overleed op de leeftijd van 7 weken. De vondst van deze patiënten leidde tot de gedachte dat de vasculaire problemen het gevolg waren van de verhoogde homocysteïneconcentraties (17). Om dit te bewijzen, was het noodzakelijk om aan te tonen dat een verlaging van de homocysteïneconcentraties zou leiden tot een vermindering van de vasculaire problemen. Verlaging van de homocysteïneconcentratie door een eiwitarm dieet en het toedienen van vitamine B6, B12, en/of foliumzuur bleek in de meeste gevallen goed mogelijk, en het risico op een cardiovasculair incident werd drastisch verlaagd.

Het gegeven dat onbehandelde jonge patiënten met hyperhomocystinurie een ernstige vorm van vaatlijden ontwikkelen deed het vermoeden opkomen dat misschien zelfs een milde verhoging van homocysteïne een risicofactor zou kunnen zijn voor hart- en vaatziekten, of het effect van andere risicofactoren zoals hoog cholesterol, roken, hypertensie, leeftijd, en geslacht zou versterken. In 1995 (18) werd middels een meta-analyse van 27 studies in meer dan 4000 patiënten vastgesteld dat homocysteïneverhoging een onafhankelijke risicofactor is voor vaatziekten in de coronaire, cerebrale en perifere circulatie. 20 - 30% van de patiënten met een van bovengenoemde vormen van vaatlijden hebben een mild verhoogde homocysteïnespiegel (19). Tevens werd gevonden dat de homocysteïnespiegel verlaagd kan worden d.m.v. foliumzuursuppletie.

Het is nog onduidelijk of er een causaal verband bestaat tussen hyperhomocysteïnemie en vasculaire problematiek. Met andere woorden: is de verhoogde concentratie homocysteïne bij de verschillende ziekten de oorzaak van de klinische verschijnselen van de patiënten, of is homocysteïne slechts een biomarker voor het ziektebeeld? Om deze vraag te beantwoorden zijn grote studies naar het effect van verlaging

van de homocysteïneconcentratie op het optreden van ziekteverschijnselen noodzakelijk.

Intussen zijn er vele aanwijzingen dat verhoogde homocysteïneconcentraties ook geassocieerd zijn met andere ziektebeelden, zoals nierfalen, neuraalbuisdefecten (het open ruggetje), hazenlip, recidiverende miskramen, zwangerschapsvergiftiging, de ziekte van Alzheimer en dementie (20). Foliumzuursuppletie vóór de conceptie voorkomt meer dan 50% van de open ruggetjes. Of foliumzuur of één van de andere twee B-vitamines een vergelijkbaar positief effect heeft op de andere ziekten moet nog onderzocht worden.

In Nederland is er een unieke bijdrage aan de kennis over hyperhomocysteïnemie geleverd door de groep van dr. Henk Blom, Radboud Universiteit, Nijmegen. Ons laboratorium heeft in een vrij vroeg stadium een betrouwbare homocysteïnemeting opgezet, en als belangrijke aanvulling daarop unieke methoden ontwikkeld voor de bepaling van S-adenosylmethionine (SAM) en S-adenosylhomocysteïne (SAH), twee belangrijke intermediären in het homocysteïnemetabolisme. Bovendien zijn wij in staat foliumzuur en verschillende vormen van natuurlijke folaten te meten. Onderzoek binnen het Metabool Laboratorium in samenwerking met verschillende klinische partners binnen het VUmc richt zich op epidemiologische relaties tussen verschillende aspecten van vaatziekten, met de vitamine status en de concentraties van homocysteïne en SAM en SAH. Tevens onderzoeken wij de pathofysiologie en de behandeling van hyperhomocysteïnemie bij nierfalen, en de invloed van hormoonsuppletie op de homocysteïnespiegels.

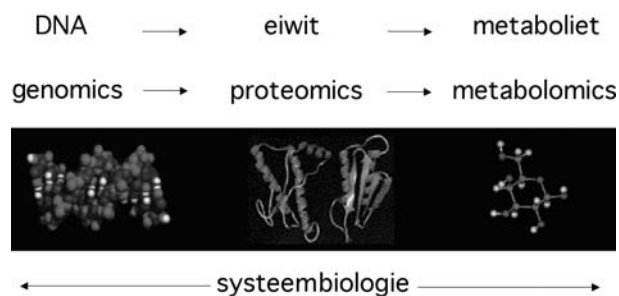
In samenwerking met het Institute for Food Research in Norwich, Groot-Brittannië, bestuderen wij het effect van met foliumzuur verrijkte voedingsen, en de beschikbaarheid daarvan, op de homocysteïneconcentraties in bloed binnen een groot Europees samenwerkingsverband. Aspecten met betrekking tot de pathogenese van hyperhomocysteïnemie, zoals het effect op DNA-methylering en celdood (apoptose), en de associaties met ADMA en NO-synthese worden bestudeerd met de groep van dr. Blom en prof. Tavares de Almeida, Lissabon.

Deze en andere studies die betrokkenheid vereisen van vele disciplines: de geneeskunde, de biochemie, epidemiologie, de farmacologie, genetica en de voedingsleer zullen de komende jaren veel informatie opleveren over homocysteïne, waarmee we in staat zullen zijn dit aminozuur in het juiste perspectief te gaan zien.

### Systeembioogie en de rol van het metabooloom

Monogenetische ziekten vormen een excellent startpunt voor de studie van erfelijke ziekten bij de mens. Een grote uitdaging, de uitdaging van de toekomst, vormen de veel frequentere multifactoriële ziekten. 60% van de bevolking zal eens in zijn of haar leven geconfronteerd worden met een ziekte met een genetische component.

Genen kunnen ons informatie verschaffen over ziekte, maar zijn niet de biologisch actieve componenten. Genveranderingen, samen met omgevingsfactoren, veroorzaken ziekte via veranderde eiwitten en meta-



Figuur 7.

bolietpiegels. Onderzoekers worden zich in toenemende mate bewust van de biologie als samenhangend geheel. Systeembioogie is de studie van de biologie als een geïntegreerd systeem van genexpressie (genomics), de eiwitexpressie (proteomics) en de metabolietpiegels (metabolomics), die voortdurend met elkaar in evenwicht zijn en afhankelijk van elkaar zijn (21, 22).

Door het simultaan analyseren van deze 3 niveaus wordt de samenhang duidelijk en worden patronen herkenbaar. De patronen verschaffen inzicht in de processen binnen de cel op DNA-, eiwit- en metabolietniveau. Het is deze samenhang van factoren die belangrijk kan zijn voor het begrip over de ziekte. Wanneer patronen van grote groepen patiënten worden vergeleken kunnen onderlinge relaties worden aangetoond. Zo kan worden aangetoond dat verstoring van een metabole route de oorzaak kan zijn van verschillende ziekten. Systeembioogie probeert omvattende modellen van de organisatie van de cel en de biochemische functies te ontwikkelen, metabole routes en metabole interacties op te helderen, en deze te relateren aan de klinische verschijningsvormen (fenotypes). De ultieme doelstelling van systeembioogie is de identificatie van nieuwe diagnostische en prognostische markers, de identificatie en validatie van nieuwe medicijnen, het ontwerpen van modellen voor ziekteprogressie en de ontdekking van gemeenschappelijk kenmerken (21, 22).

Het belang van metabolieten als bouwstenen en energietransporters en in de biologische controle en communicatie, maken metabolieten tot de belangrijkste indicatoren voor veranderingen in het biologische systeem. Het metabooloom is de ultieme blauwdruk van de fysiologische status van een organisme.

De studie van het metabooloom zou wel eens beduidend meer complex kunnen zijn dan die van het genoom en het proteoom (22). Het betreft de bestudering van een enorm scala aan kleine producten van de stofwisseling in een bepaalde biologische matrix, bijv. lichaamsvloeistoffen en weefsels. Het is een complexe techniek, niet alleen gezien het grote aantal stoffen, dat geschat wordt tussen de 10.000 en 30.000. Maar metabolieten kennen een grote structurele variabiliteit en grote verschillen in de concentraties waarin zij aanwezig zijn. Identificatie en kwantificering zijn hierdoor heel complex.

De complete studie van het metabooloom vereist verschillende analytisch-chemische technieken en verschillende monsteropwerkingsstrategieën om de lage



concentraties en grote structurele variabiliteit te kunnen omvatten. Het is een grote uitdaging om de huidige technologie en methodologie te verfijnen en innovatie op bijna alle aspecten is nodig.

Het belang van NMR- en massaspectrometrie als identificatie- en detectietechnieken zal toenemen. De volgende generatie NMR- en massaspectrometers moet, en zal, verbeteringen laten zien in verwerkingscapaciteit, gevoeligheid en het vermogen stoffen te identificeren in lage concentraties.

In de toekomst zal het mogelijk zijn de identiteit van alle moleculen te bepalen in lichaamsvloeistoffen en/of weefsels. Dit zal leiden tot een nieuwe manier om ziekte te bestuderen, namelijk door middel van een heel profiel van metabolieten (biomarkers) in plaats van door middel van een enkelvoudige biomarker, leidend tot 'metabolietfenotypering'.

In de loop van dit jaar is officieel het Centrum voor Medische Systeem Biologie (CSMB) opgericht. Het is een van de twee medische 'Genomics Centers of Excellence'. Partners in dit centrum zijn het Leids Universitair Medisch Centrum, het Erasmus Medisch Centrum Rotterdam en het VU medisch centrum. Bovendien is TNO partner. Directeur van dit centrum is prof. Gert Jan van Ommen, hoogleraar klinische genetica in Leiden. De focus van dit centrum zal liggen op de studie van multifactoriële ziekten m.b.v. systeembiologie. Parallel aan de studie van multifactoriële ziekten zal het systeem worden getoetst op goed gedefinieerde, gerelateerde monogenetische ziekten. Hierbij zullen opnieuw de erfelijke stofwisselingsziekten (humane knock-out-modellen) een belangrijke rol kunnen spelen.

### Massaspectrometrie

Ik denk dat het algemeen bekend is dat bijvoorbeeld voor dopingcontrole bij sporters, identificatie van monsters van de maan en ouderdomsbepalingen van mummies en gesteenten gebruik wordt gemaakt van erg gevoelige analytische apparatuur. Meestal is dit een massaspectrometer. Heel kort een uitleg.

Elke stof bestaat uit moleculen. Stoffen onderscheiden zich van elkaar door hun chemische structuur en hun massa. Massaspectrometrie is een techniek die informatie geeft over structuur en massa van een verbinding en kan daardoor verbindingen identificeren. Zijn structuur en massa van een verbinding bekend, dan is massaspectrometrie een gevoelige techniek om kleine hoeveelheden stof te detecteren. Massaspectrometrie kwam beschikbaar in de begin jaren '70 van de vorige eeuw. Deze techniek heeft een belangrijke bijdrage geleverd aan de ontdekking van een groot aantal stofwisselingsziekten en is sindsdien erg belangrijk bij de diagnostiek van bekende stofwisselingsziekten. Door nieuwe ontwikkelingen in de massaspectrometrie is het aantal mogelijkheden, en daarmee het aantal toepassingen, sterk uitgebreid. Het is nu mogelijk om grotere, minder vluchtige en polaire moleculen, te analyseren. Ook eiwitten bijvoorbeeld. Een belangrijke ontwikkeling is de tandem-massaspectrometrie (MS/MS).

Massaspectrometers kunnen, zoals gezegd, massa's onderscheiden. Als een stof wordt gemaakt waarin

een natuurlijke isotoop wordt vervangen door een stabiele, en meestal zwaardere isotoop, ontstaat een nieuwe, gemerkte, verbinding die wat zwaarder is dan de natuurlijke verbinding. De gemerkte verbindingen kunnen worden gebruikt bij het onderzoek aan het metabolisme, omdat zij zich biologisch en fysisch gelijk gedragen aan de natuurlijke verbindingen, en toch daarvan te onderscheiden zijn.

Het Metabool Laboratorium van het VUmc is sinds 20 jaar gespecialiseerd in het analyseren van metabolieten in lichaamsvloeistoffen en weefsels. Kwantitatieve analyses van individuele metabolieten en metabolietprofielen worden uitgevoerd voor de pre- en postnatale diagnostiek van aangeboren stofwisselingsziekten. Het onderzoek is gericht op het oplossen van onbekende metabole routes en aangeboren afwijkingen hierin.

Wij prijzen ons gelukkig dat een organisch synthese-lab, onder leiding van dr. Herman ten Brink, deel uitmaakt van het Metabool Laboratorium. Binnen dit laboratorium worden met stabiele isotopen gemerkte verbindingen die niet commercieel te verkrijgen of onbetaalbaar zijn, gesynthetiseerd. In de afgelopen 20 jaren heeft dit laboratorium zijn bestaansrecht bewezen. Met vijf massaspectrometers, waaronder twee tandem-massaspectrometers en een isotoopratio-massaspectrometer en de benodigde expertise is het Metabool Laboratorium bijzonder goed uitgerust voor metabole diagnostiek en onderzoek.

In de toekomst zal dit potentieel van het Metabool Laboratorium naast de bestudering van het menselijke metabolisme en erfelijke stofwisselingsziekten ook worden ingezet bij het onderzoek naar verworven stofwisselingsziekten en multifactoriële ziekten. Met onze expertise op het gebied van erfelijke stofwisselingsziekten en massaspectrometrie zouden we een belangrijke rol kunnen spelen binnen de metabolomics poot van het Center of Medical Systems Biology. De 'metabolomics' specialist van dit centrum is prof. Jan van der Greef van TNO. Wij hebben contacten gelegd met zijn groep om onze bijdrage hieraan te leveren. Belangrijk in deze researchstrategie is de studie van aangeboren stofwisselingsziekten als modelsystemen van waaruit later multifactoriële ziekten bestudeerd kunnen worden. Ook binnen de VU bestaat er interesse voor onze inbreng in dezen, met name van de afdelingen Moleculaire Celbiologie en Celfysiologie.

Het is van cruciaal belang dat de Afdeling Klinische Chemie, de raad van bestuur van het VUmc, en de VU-participanten binnen het Center of Medical Systems Biology, de waarde van het instandhouden en het zo nodig uitbreiden van onze massaspectrometrische apparatuur en expertise onderkennen. Slechts dan zal een bijdrage van ons laboratorium aan het Center of Medical Systems Biology mogelijk zijn.

### Het Metabool Laboratorium en de Klinische Genetica

De Klinische Genetica heeft in Nederland omstreeks 1980 gestalte gekregen met de oprichting van 7 Stichtingen Klinische Genetica en de realisatie van

klinische genetische centra in de directe invloedssfeer van de academische ziekenhuizen. Deze centra hebben de afgelopen 20 jaar hun waarde bewezen. De samenhang tussen de onderdelen, zoals erfelijkheidsadvisering, laboratoriumdiagnostiek, en prenatale diagnostiek is een belangrijke factor voor het succes van de centra gebleken. Activiteiten van de Stichtingen Klinische Genetica vielen onder de Wet Bijzondere Medische Verrichtingen en behoorden dus tot de Top Klinische Zorg. Ook de diagnostiek van erfelijke stofwisselingsziekten binnen het Metabool Laboratorium valt onder artikel 2 van deze wet. Intussen zijn de vergunningen voor de klinisch-genetische verrichtingen overgegaan van de 7 stichtingen naar de 8 academische ziekenhuizen.

In de beleidsnota "de toepassing van de genetica in de gezondheidszorg" van de toenmalige minister van VWS, mevr. Borst, en het daarbij horende planningsbesluit van de staatssecretaris van VWS van 23 januari 2003, wordt gesteld dat de klinisch genetische centra in de academische ziekenhuizen zich dienen te ontwikkelen tot regionale kenniscentra, die een leidende en coördinerende rol moeten spelen in het opzetten van een netwerk voor genetische diagnostiek van waaruit zich de kennis in de regio dient te verspreiden.

De raad van bestuur van het VU medisch centrum heeft aangegeven op het gebied van de genetica toonaangevend te willen zijn, zowel in onderzoek als op het gebied van de toepassing van nieuwe technieken in diagnostische en therapeutische sfeer. Hierin wordt in het VUmc dan ook aanzienlijk geïnvesteerd. Ook kenniscentra vallen binnen hoofdlijnen van beleid. Het VU medisch centrum wil zich ontwikkelen als kenniscentrum, en wil daarmee nadrukkelijk dienen als vraagbaak voor zorgverleners in de regio. De relatie met de regio is hierbij complementair: we hebben elkaar nodig. Door keuzes voor kenniscentra profileert het medisch centrum zich nadrukkelijk op een aantal gebieden. Het oprichten van een kenniscentrum Erfelijkheid past in het beeld van een eigentijds VUmc.

Gezien de zeldzaamheid van de individuele stofwisselingsziekten is er in Nederland een roep om specialisatie en centralisatie van activiteiten. Dit is op zich niet onverstandig, maar mag geen politiek doel op zich worden. Het gevaar bestaat dat de unieke Nederlandse infrastructuur onder druk komt te staan, en het kind met het badwater wordt weggegooid.

Instandhouding van de infrastructuur heeft meerwaarde, het verdwijnen niet. Wij kunnen de 8 academische laboratoria voor metabole diagnostiek handhaven door het oprichten van regionale netwerken. Instandhouding van de 8 metabole laboratoria is tevens van groot belang voor de opleiding van voldoende laboratoriumspecialisten met beroeps erkenning van de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde en de Nederlandse Anthropogenetische Vereniging. Bovendien zullen de structuren en de expertise van deze laboratoria belangrijk zijn, wanneer deze worden gevraagd voor bestudering van de multifactoriële ziekten, en te participeren in het proteomics en metabolomics deel van de systeembioïologie. Afspraken maken over ver-

dere specialisatie zal mogelijk en wenselijk zijn, maar vereist samenwerking in vertrouwen, en het creëren van zekerheden voor de bestaande laboratoria. Het Metabool Laboratorium zal actief participeren binnen het kenniscentrum Genetica van het VUmc en de taken in de regio serieus nemen.

### Slotwoord

Nu ik aan het eind van mijn betoog ben gekomen, past een woord van dank.

Het bestuur van de vereniging voor Christelijk Wetenschappelijk Onderwijs en het college van bestuur dank ik voor de benoeming en het in mij gestelde vertrouwen. Ik dank de raad van bestuur van het Vrije Universiteit medisch centrum voor het instellen van de leerstoel Klinische Chemie met aandachtsgebied metabole ziekten. Ik dank de benoemingscommissie onder voorzitterschap van hooggeleerde prof. Christien Dijkstra. Ik dank de decaan prof. Ed van Veen in het ondersteunen en begeleiden van deze benoemingsprocedure.

Ik ben mijn VU-loopbaan begonnen bij de afdeling Kindergeneeskunde; Prof. Guus de Jonge, prof. Theo Geudeke. Met waardering vermeld ik jullie blijvende interesse in mijn verdere wetenschappelijke loopbaan en ontwikkeling, ook altijd met oog voor mijn persoonlijk leven. Jullie aanwezigheid hier stel ik zeer op prijs. Prof. Anjo Veerman, met veel achting voor je wetenschappelijke prestaties en je bekwaamheid als kinderarts zeg ik ook jou dank. Het was onder jouw leiding dat de afdeling Kindergeneeskunde uiteindelijk besloot het Metabool Laboratorium over te plaatsen naar de afdeling Klinische Chemie. Een van de punten waarop ik in al die jaren bij de afdeling Kindergeneeskunde bleef hameren was de absolute noodzaak dat er aan de VU een kinderarts met specialisatie metabole ziekten moest komen. Het lijkt nu onder het huidige hoofd, prof. John Roord, te gaan gebeuren. Er is een vacature gecreëerd, en in 2004 zal het VUmc als laatste academisch ziekenhuis in Nederland deze functie gaan invullen. Beste John, ik wens je afdeling een gouden toekomst. Een sterke kinderafdeling is cruciaal voor diagnostiek en research van ons laboratorium.

In 1995 was er dan de overgang naar de afdeling Klinische Chemie die op dat moment onder leiding stond van dr. Han Stroes. Dank Han, want uiteindelijk heb jij ertoe bijgedragen dat het mij duidelijk werd dat de overgang naar de klinische chemie inderdaad voor zowel de klinische chemie als ook voor het Metabool Laboratorium voordelen had. Onder zijn opvolger prof. Ruud Schutgens ontstond er voor het Metabool Laboratorium letterlijk en figuurlijk ruimte voor het opzetten van enzym- en DNA-diagnostiek, en enkele nieuwe researchactiviteiten werden financieel ondersteund. Het is nu duidelijk dat dit een belangrijke stap is geweest in de verdere ontwikkeling van ons laboratorium. Het huidige hoofd, prof. Rien Blankenstein is druk doende met de verdere structurering van de afdeling Klinische Chemie. Ik wil je bedanken voor je steun en goede tips voor mijn ordinariaat. Ik hoop op een langdurige goede samenwerking.

Laboratoriumhoofden en managers staan soms recht tegen over elkaar in hun afwegingen, hoewel ze uiteindelijk dezelfde belangen dienen te dienen. Felicia Barbieri en Myrthe van Nugteren-Kok, ons basierend op feiten en met wederzijds respect komen we er altijd uit. Dank voor jullie inzet voor de afdeling.

Ik wil mijn dank richten tot prof. Marjo van der Knaap, prof. Coen Stehouwer, prof. Rob Heine, prof. Reinoud Gemke en jullie medewerkers. Belangrijke onderzoeksprojecten binnen het Metabool Laboratorium vinden plaats in goede samenwerking met jullie. Dit moet zo blijven, en daar waar mogelijk uitgebreid worden. Jullie zijn bovendien de bruggen naar de onderzoeksscholen waarin ons onderzoek is ingebed. Marjo, ook voor onze patiëntenzorgactiviteiten ben je van prominent belang, en wij prijzen ons gelukkig met je neurometabole expertise en interesse.

Beste collega kinderartsen, biochemici en klinisch chemici metabole ziekten; de Nederlandse metabole diagnostiek en het wetenschappelijke onderzoek is van wereldniveau. Ik heb bovendien aan den lijve ondervonden, gedurende mijn jaar in Parijs, hoe goed onze structuren zijn. Laten we dit vooral zo houden. Ik dank alle collega's voor de collegiale samenwerking en in het bijzonder de bestuursleden van de ESN tijdens mijn 6-jarig voorzitterschap.

Diagnostiek en onderzoek naar erfelijke stofwisselingsziekten vereist internationale samenwerking. Wij prijzen ons gelukkig met de goede samenwerkingsverbanden met Cincinnati, Dallas en Portland in de USA, en Heidelberg, Parijs, Lyon, Genua, Lissabon en Porto in Europa. Het is van onschatbaar belang dat zo een samenwerking in groot vertrouwen en met goede afspraken plaatsvindt. Het is bijzonder wanneer uit zo'n samenwerking een vriendschap ontstaat. Ik heb behoefte twee internationale contacten eruit te lichten. Mijn grote dank gaat uit naar prof. Michael Gibson, Portland, USA. Beste Mike, sinds 1980, tijdens mijn tweejarig verblijf in San Diego, werken we samen op het gebied van het GABA-metabolisme. Deze samenwerking heeft geleid tot veel nieuwe inzichten over de ziektebeelden en de behandeling ervan en was gestoeld op een onderling vertrouwen, en op vriendschap. Hierdoor hebben we ook veel momenten gekend waarin niet werkinhoud, maar alle-daags plezier en verdriet werden gedeeld. Ik hoop dat we nog vele jaren deze weg kunnen vervolgen.

Dank aan prof. Jean-Marie Saudubray, Hôpital Necker Enfants Malades, Parijs. Beste Jean-Marie, je bent een coryfee, je toewijding aan patiënten met metabole ziekten en hun ouders is ongeëvenaard, en komt niet voort uit streven naar persoonlijk gewin of uit puur wetenschappelijke interesse, maar komt voort uit oprechte belangstelling voor de patiënten en mensen in het algemeen. Daarbij komt een ongelofelijk inzicht in de biochemie, de mechanismen van pathogenese, en je gedrevenheid om patiënten te behandelen. Mijn bewondering voor je is in het afgelopen jaar om meerdere redenen alleen maar toegenomen. Je vriendschap, en die van je vrouw en kinderen, heeft me tijdens mijn verblijf in Parijs steeds veel goed gedaan.

Het Metabool Laboratorium van de VU; eigenlijk had ik met jullie moeten beginnen. Maar bijna aan het

eind krijgen jullie, naar ik hoop, toch genoeg nadruk. Toen ik in 1982 aan de VU begon waren er naast mij 1 staflid en 4 analisten. Nu zijn we bijna met ons dertigen. De stafleden, dr. Nanda Verhoeven, dr. Gajja Salomons, dr. Tom Teerlink, dr. Herman ten Brink en dr. Kees de Meer. Beste Nanda, Gajja, Tom, Herman en Kees. Jullie zijn toppers, elk op jullie eigen gebied en elk op jullie eigen manier. Mijn dank voor de hoge kwaliteit van de geleverde prestaties in onderzoek en diagnostiek. Nanda en Gajja, mijn waardering en dank moge ook blijken uit de onderwerpen die ik heb gekozen voor deze oratie, en waaraan jullie wezenlijk hebben bijgedragen. Diagnostiek en research waren en zijn niet mogelijk zonder de inbreng van de promovendi, onderzoeksmedewerkers, analisten, en secretaresses. Ook aan jullie dank voor de geleverde prestaties. Ik hoop jullie vanavond persoonlijk te kunnen toespreken.

Mijn familie. Als bijna de jongste uit een groot gezin (en ik ben niet erg jong meer), doet het me genoeg dat mijn broers en zussen allemaal hier aanwezig kunnen zijn in redelijk goede gezondheid. Ik weet dat jullie best trots zijn, maar het is ook goed te weten dat als ik weer in jullie midden ben, ik met beide voeten op de grond word gezet, zonder kapsones, één van allen. Ik zie jullie niet zo vaak, maar het is altijd weer een genoegen.

Dorothea en Toni. Ik stel jullie aanwezigheid erg op prijs. Dorothea, met respect dank ik je voor de in het verleden gegeven steun.

Lieve Nadja en Michaelis, dank dat jullie die verre reis gemaakt hebben. Ik heb veel meegemaakt en misschien ook wel bereikt in het leven. Maar tot voor kort een ding nog niet. Ik ben nu opa. Ik ben erg blij met Leon Omros Cornelis.

Ik heb gezegd.

#### Literatuur

1. Sobel D. When Galileo turned to verse. *Nature* 2000; 405: 735.
2. Ommen GJ van. In: *News@genomics.nl*. 2003; 2-no.1: 4-5.
3. Jakobs C, Bojasch M, Monch E, Rating D, Siemes H, Hanefeld F. Urinary excretion of gamma-hydroxybutyric acid in a patient with neurological abnormalities. The probability of a new inborn error of metabolism. *Clin Chim Acta* 1981; 111: 169-178.
4. Gibson KM, Jakobs C. Disorders of beta- and gamma-amino acids in free and peptide-linked forms. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. McGraw-Hill, New York. 2001; 2079 – 2109.
5. Pearl PL, Novotny EJ, Acosta MT, Jakobs C, Gibson KM. Succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency in children and adults. *Ann Neurol* 2003; 54 Suppl 6: S73-80.
6. Gupta M, Hogema BM, Grompe M, Bottiglieri TG, Concas A, Biggio G, Sogliani C, Rigamonti AE, Pearl PL, Snead OC 3rd, Jakobs C, Gibson KM. Murine succinate semialdehyde dehydrogenase deficiency. *Ann Neurol* 2003; 54 Suppl 6: S81-90.
7. Hogema BM, Gupta M, Senephansiri H, Burlingame TG, Taylor M, Jakobs C, Schutgens RB, Froestl W, Snead OC, Diaz-Arrastia R, Bottiglieri T, Grompe M, Gibson KM. Pharmacologic rescue of lethal seizures in mice deficient in succinate semialdehyde dehydrogenase. *Nat Genet* 2001; 29: 212-216.

8. Knaap MS van der, Wevers RA, Struys EA, Verhoeven NM, Pouwels PJ, Engelke UF, Feikema W, Valk J, Jakobs C. Leukoencephalopathy associated with a disturbance in the metabolism of polyols. *Ann Neurol* 1999; 46: 925-928.
9. Verhoeven NM, Huck JH, Roos B, Struys EA, Salomons GS, Douwes AC, van der Knaap MS, Jakobs C. Transaldolase deficiency: liver cirrhosis associated with a new inborn error in the pentose phosphate pathway. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1086-1092.
10. Stockler S, Holzbach U, Hanefeld F, Marquardt I, Helms G, Requart M, Hanicke W, Frahm J. Creatine deficiency in the brain: a new, treatable inborn error of metabolism. *Pediatr Res* 1994; 36: 409-413.
11. Stromberger C, Bodamer OA, Stockler-Ipsiroglu S. Clinical characteristics and diagnostic clues in inborn errors of creatine metabolism. *J Inherit Metab Dis* 2003; 26: 299-308.
12. Salomons GS, van Dooren SJ, Verhoeven NM, Cecil KM, Ball WS, Degrauw TJ, Jakobs C. X-linked creatine-transporter gene (SLC6A8) defect: a new creatine-deficiency syndrome. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1497-1500.
13. Salomons GS, van Dooren SJ, Verhoeven NM, Marsden D, Schwartz C, Cecil KM, DeGrauw TJ, Jakobs C. X-linked creatine transporter defect: an overview. *J Inherit Metab Dis* 2003; 26: 309-318.
14. Carson NAJ, Cusworth DC, Dent CE, Field CMB, Neill DW, Westall RG. Homocystinuria: A new inborn error of metabolism associated with mental deficiency. *Arch Dis Child* 1963; 38: 425-436.
15. Mudd SH, Finkstein JD, Irreverre F, Laster L. Homocystinuria: An enzymatic defect. *Science* 1964; 143: 1443-1445.
16. Mudd SH, Levy HL, Abeles RH. A derangement in B12 metabolism leading to homocystinemia: Cystathioninemia and methylmalonic aciduria. *Biochem Biophys Res Commun* 1969; 35: 121-126.
17. McCully KS. Vascular pathology of homocystinemia: implication for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 121-128.
18. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: Probable benefit of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274: 1049-1057.
19. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 1998; 49: 31-62.
20. Carmel R, Jacobsen DW (Eds). *Homocysteine in Health and Disease*. Cambridge University Press, Cambridge, UK 2001.
21. Kitano H. Systems biology: a brief overview. *Science* 2002; 295: 1662-1664.
22. Greef J van der, Davidov E, Verheij E, Vogels J, Heijden R van der, Adourian AS, Oresic M, Marple EW, Naylor S. The Role of Metabolomics in Drug Discovery: A New Vision for Drug Discovery and Development. In: Harrigan GG, Goodacre R, (Eds). *Metabolic Profiling: Its Role in Biomarker Discovery and Gene Function Analysis*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 2003; 170-198.