39 MAG
NN02963
71230 1998-03-03 96633
CA
563

fundamentele genoegens

door prof.dr.ir. I.M.C.M. Rietjens

uitzicht op toepassing

door prof.dr. P.J. van Bladeren

landbouwuniversiteit

FUNDAMENTELE GENOEGENS

door prof.dr.ir. I.M.C.M. Rietjens

UITZICHT OP TOEPASSING

door prof.dr. P.J. van Bladeren

Inaugurele redes uitgesproken op 19 december 1997
Prof.dr.ir. I.M.C.M. Rietjens bij de aanvaarding van het ambt van persoonlijk hoogleraar bij het Laboratorium voor Biochemie aan de Landbouwuniversiteit Wageningen.
Prof.dr. P.J. van Bladeren bij de aanvaarding van het ambt van bijzonder hoogleraar in de Toxicokinetiek en Biotransformatie, vanwege de Stichting Lorentz-Van Itersonfonds TNO.

FUNDAMENTELE GENOEGENS

Geachte aanwezigen,

Inleiding

Bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar is het een goede gewoonte middels het uitspreken van een rede bredere bekendheid te geven aan onderzoek- en onderwijsaspecten van het betreffende vakgebied.
De titel van mijn rede, 'fundamentele genoegens', geeft al aan dat ik het in het komende half uur met U wil hebben over een aantal inspirerende aspecten van mijn werk.
Nu staan wetenschappers erom bekend hun genoegens vooral te vinden in het wetenschappelijk onderzoek, maar toch wil ik beginnen U een aantal aspecten van het huidige wetenschappelijke onderwijs te noemen.

Onderwijs

Het geven van goed en inspirerend wetenschappelijk onderwijs is een belangrijke en stimulerende taak. Studenten strijden met grote inzet voor verbetering van het onderwijs en vinden daarvoor in toenemende mate de steun van docenten en de politiek. Studenten hebben recht op goed en inspirerend onderwijs. Dat geldt met name in het huidige stelsel van studiefinanciering, waar, als gevolg van tempobeurzen, prestatienormen, bindende en niet-bindende studieadviezen, de tijd om student te zijn aldoor verder wordt beknot. In het huidige onderwijssysteem is te weinig ruimte voor zelfontplooiing, tenzij gefinancierd door een baantje als taxichauffeur, cassière of schoonmaakkracht. Dat is eigenlijk een fundamenteel ongenoegen.
Wanneer je als docent aan de universiteit je taak definieert als het opleiden van jonge mensen die, behalve

over kennis op niveau, ook beschikken over een gezonde dosis zelfkennis en zelfvertrouwen, dan moet je proberen de universitaire studie meer te laten zijn dan het verzamelen van studiepunten. Hoewel ik me realiseer dat de grens van het budgetmodel dit fundamentele genoegen van het onderwijs momenteel in toenemende mate in de weg lijkt te staan, vind ik het wel mijn taak aandacht te vragen voor dit probleem. Ik doe dat vandaag met des te meer overtuiging, omdat ik een aantal knelpunten signaleer, veroorzaakt door het huidige studiestelsel. In de eerste plaats is dat het risico van verlies aan kwaliteit. Niet de didactische kwaliteit van de colleges en van de practica, maar de inhoudelijke kwaliteit, te definiëren als het uiteindelijk te bereiken niveau van de gedoceerde leerstof. Wanneer een vak, of een onderdeel daarvan, te moeilijk is, stimuleert ons huidige systeem eerder het laten vervallen van de betreffende leerstof dan dat het de docenten en studenten stimuleert het betreffende niveau na te streven.
Een tweede knelpunt is de toenemende stress bij de studenten zelf. Bijbaantjes, het studietempo en gebrek aan tijd om alle privé- en studieproblemen te verwerken, leiden steeds vaker tot stress.
Het zou een fundamenteel genoegen zijn, wanneer de politiek betere kaders zou scheppen voor een wetenschappelijke opleiding die uit kan stijgen boven een jacht op studiepunten. Dat is een investering in onze toekomst.

Onderzoek: fundamenteel en toepassingsgericht
Helaas staat in de huidige tijd van bezuinigingen op het stelsel van hoger onderwijs, niet alleen de financiering van het universitair onderwijs, maar ook dat van het uni-

versitair onderzoek onder druk.
De politiek schrijft voor dat wetenschappers de schaarser wordende middelen, die de maatschappij en politiek ter beschikking stellen, besteden aan maatschappelijk relevante vraagstellingen.
Of, zoals J. Dubelaar en A. Erftemeijer het beschrijven (1): "In plaats van in een studeerkluis wat te zitten tobben, dient een geleerde van de Parnassus af te dalen en in een maatschappelijk geëngageerde 'wetenschapswinkel' bedrijvig rond te draven" (einde citaat). In Nederland lijkt momenteel "maatschappelijk" synoniem te zijn voor "economisch rendabel". Wanneer een industrie bereid is te participeren in een onderzoek, is dit onderzoek daarmee ineens relevanter en belangrijker geworden. Ik begrijp dat deze opzet uitstekend lijkt voor de BV Nederland. Wij kennen allemaal het genoegen van onze luxe en de huidige welvaart. Het instandhouden van deze op wereldschaal bovengemiddelde levensstandaard, vereist het instandhouden van onze concurrentiepositie via innovatie en een hoge intellectuele toegevoegde waarde voor de producten die wij maken. Het aanleveren van nieuwe opties en ideeën voor dergelijke innovatie lijkt een belangrijke taak te zijn geworden voor de universiteiten.
Toch durf ik te stellen dat universitaire onderzoekers in zogenoemd eerste en tweede geldstroom onderzoek meer vrijheid moeten hebben dan de vrijheid en kaders gesteld door een economisch perspectief. Er bestaat immers de derde geldstroom waar duidelijk economische en maatschappelijke kaders aan onderzoek gesteld kunnen worden.
De vandaag gekozen opzet van onze beide inaugurele redes laat zien dat taakverdeling mogelijk moet zijn. Een

goede afstemming en samenwerking tussen fundamenteel en toepassingsgericht onderzoek levert, als het goed is, meerwaarde op, maar moet er niet toe leiden dat de scheidslijnen tussen fundamenteel en toegepast onderzoek vervagen.
Genoemde problematiek van afstemming, integratie en samenwerking tussen fundamenteel en toepassingsgericht onderzoek is voor Wageningen momenteel extra relevant, gezien de instelling en invulling van het KCW, het Kennis Centrum Wageningen.

De vraag rijst dan waarom het, wanneer het nut van de interactie tussen fundamenteel en toepassingsgericht onderzoek evident is, toch politieke druk vereist om deze samenwerking tot stand te brengen.

Eén van de redenen is dat in het huidige onderzoekmanagement, de vraag naar nut en noodzaak meer waardering krijgt dan de theoretische kennisvraag, gesteld door de wetenschappers zelf. Dit leidt tot uitspraken, waarbij geconstateerd wordt dat het screenen van enkele 100-duizenden stoffen goedkoper, sneller en dus te verkiezen is boven het verkrijgen van fundamenteel inzicht in het bestudeerde proces en het langs die laatste route definiëren van nieuwe reactiemogelijkheden.
Al met al zou ik willen bepleiten dat herwaardering van mechanistisch inzicht een vereiste is voor de beoogde interactie tussen fundamentele en toepassingsgerichte onderzoekactiviteiten.

Een tweede belangrijke oorzaak van de moeite die het kost om toepassingsgericht en fundamenteel onderzoek bij elkaar te brengen is opnieuw een communicatiepro-

bleem.
In het verleden hebben de fundamentele en de op toepassingen gerichte wetenschap hun eigen ontwikkeling doorgemaakt. De prestatie-indicatoren waarop de betreffende onderzoekers worden afgerekend, zijn, als gevolg daarvan, verschillend. Een fundamentele wetenschapper die wordt afgerekend op citatiescores en de citatie-index van de gepubliceerde artikelen heeft andere problemen aan zijn hoofd dan de industriële onderzoeker die een vastgesteld percentage rendement op het geïnvesteerd vermogen waar moet maken.
Deze Return On Investment (ROI) is voor universitair onderzoek niet te meten. De ROI van universitair fundamenteel onderzoek zou gedefinieerd moeten worden op basis van haar maatschappelijk belang voor een goed leefmilieu op de lange termijn. Dit is niet een 5-jarenplan. Het is een rendement voor toekomstige generaties, niet voor het economisch belang van de huidige generatie.

De biochemie
Na deze gedachten rond de onderwijs en bestuurlijke aspecten van mijn werk, wil ik U natuurlijk ook graag iets vertellen over mijn onderzoek en vakgebied, de biochemie.
De biochemie vindt, historisch gezien, haar oorsprong in de speculaties over de mogelijke rol van zuurstof in de fysiologische verwerking van voedsel.
Leonardo da Vinci (1452-1519) heeft, als één van de eersten, voedselverwerking door dieren en de mens al vergeleken met het branden van een kaars. Echter, de ontwikkeling van de biochemie als vakgebied begon pas zo'n driehonderd jaar later, in de late achttiende eeuw, toen de chemie als wetenschap vorm begon te krijgen.

In de periode van 1770 tot 1774 toonde Joseph Priestley aan dat dieren zuurstof verbruiken, terwijl planten het produceren. Pas in 1903 gebruikte Carl Neuberg voor het eerst de term biochemie.
Biochemici houden zich bezig met de chemie van levende systemen. De chemie dus van planten, micro-organismen, dieren en ook de mens. Deze chemie van levende systemen verschilt van de organische chemie, met name in de aard van de katalysatoren die door biologische systemen worden gebruikt om reacties te versnellen en te reguleren. Deze katalysatoren noemen we enzymen.

Structuur-functie relaties
Hoewel enzymen te klein zijn om waar te nemen met het blote oog, heeft de moderne wetenschap in de laatste tientallen jaren technieken ontwikkeld, waardoor het mogelijk is geworden in detail te beschrijven hoe een enzym eruit ziet. Om U een idee te geven van die technieken kunt U op deze dia een plaatje zien van kristallen van verschillende enzymen. Door nauwkeurige analyse van dergelijke kristallen, met behulp van röntgendiffractie, kan de drie-dimensionale structuur van het enzymmolecuul worden vastgesteld .

Als voorbeeld kunt U hier een opname zien van een cytochroom P450. Cytochromen P450 zijn in microorganismen betrokken bij de afbraak van milieuverontreinigende stoffen. Ook in ons eigen lichaam zijn cytochroom P450 enzymen betrokken bij het afbreken van lichaamsvreemde stoffen. Met name de plantaardige componenten van ons voedsel zitten boordevol natuurlijke stoffen die voor ons lichaam vreemd zijn en niet direct bruikbaar, dan wel afbreekbaar zijn. Daarnaast

krijgen we via medicijngebruik, een verontreinigd leefmilieu, of het gebruik van voedseladditieven, zoals conserveermiddelen, kleur- en smaakstoffen, veel lichaamsvreemde verbindingen binnen.
Enzymen zijn in staat stoffen te binden om ze vervolgens chemisch te modificeren. Zo'n chemische modificatie kan van nut zijn bij het opruimen van verontreinigende stoffen uit een vervuild leefmilieu, bij het ontgiften van verbindingen in ons lichaam, bij de verwijdering van niet verteerbare voedselbestanddelen uit ons lichaam, bij het omzetten van voedsel in energie en bouwstoffen, of bij de industriële productie van fijnchemicaliën. Ook kan het zijn, zoals in meer detail uitgelegd door de spreker na mij, dat enzymen in ons lichaam metabolieten maken die juist toxischer zijn dan de oorspronkelijke verbinding.
Enzymen die we in het Laboratorium voor Biochemie bestuderen, zijn betrokken bij de ontgifting of bio-activering van milieu- en lichaamsvreemde stoffen of bij de productie van industrieel relevante verbindingen.
Om U een beeld te geven van de wijze waarop we in het moderne biochemisch onderwijs en onderzoek enzymen bestuderen, wil ik U allereerst wat computerbeelden laten zien.
We hebben tegenwoordig de beschikking over computerbestanden die de gegevens van alle tot nu toe opgehelderde structuren van eiwitten, enzymen en/of biomoleculen bevatten. Via het internationale computernetwerk kunnen we beschikken over deze gegevens en tot in de kleinste atomaire details de drie-dimensionale structuren bekijken.

Hier het voorbeeld van een cytochroom P450 met in het

actieve centrum de voor katalyse nodige heem cofactor en het om te zetten substraat. Voor het begrijpen van de reactie kan het vervolgens nuttig zijn alleen een detail van de structuur te analyseren en dat kan gemakkelijk, zelfs, met behulp van de uitgedeelde brilletjes, in drie dimensies.
Het zal uit deze voorbeelden duidelijk zijn dat het kijken naar moleculen op zichzelf al een fundamenteel genoegen is.

In de huidige biochemie neemt het aantal enzymmoleculen, waarvan we een dergelijk gedetailleerd structureel beeld hebben, met de dag toe. Echter, een foto van een persoon vertelt ons nog niet veel over zijn aard en manier van doen, en zo is een drie-dimensionaal beeld van een enzymmolecuul niet in staat ons in detail te vertellen hoe het enzym de chemische reactie voor elkaar krijgt. Zo is bijvoorbeeld van het zojuist vertoonde cytochroom P450 enzym al meer dan 10 jaar de drie-dimensionale structuur bekend (2), maar we begrijpen nog altijd niet hoe de lichaamsvreemde stof in het actieve centrum komt, hoe de hoge-valentie-ferryl-oxo vorm van de porfyrine cofactor eruit ziet of hoe deze geactiveerde porfyrine cofactor het substraat modificeert tot een beter wateroplosbare metaboliet. Momenteel is de situatie in de biochemie zelfs zo, dat gesteld kan worden dat de toename in structurele kennis niet in balans is met het chemisch inzicht en de toename in fundamentele kennis over hoe die structuren daadwerkelijk bij katalyse zijn betrokken.
Als we dan constateren dat we enerzijds in toenemende mate inzicht krijgen hoe enzymen er precies uitzien en anderzijds graag willen weten hoe en hoe snel ze hun

katalytische werk kunnen doen, is de volgende stap dat we in het onderzoek na moeten denken over manieren om de structurele informatie te koppelen aan inzicht in het functioneren van enzymen.
Een deel van ons onderzoek in het Laboratorium voor Biochemie is erop gericht die link te leggen tussen enzymstructuren enerzijds en hun werking anderzijds. Het opstellen dus van structuur-werkingsrelaties.

In het beste geval kunnen dergelijke structuur-werkingsrelaties een kwantitatief karakter hebben, zodat we op basis van de structuur van een om te zetten stof, al dan niet in combinatie met de structuur van het enzym, kunnen voorspellen hoe snel en op welke manier de reactie zal verlopen. We definiëren dan kwantitatieve structuur-activiteits-relaties, kortweg QSARs genoemd. Om dergelijke QSARs te kunnen opstellen, maken we in het onderzoek opnieuw gebruik van computertechnieken.

QM/MM reactierouteberekeningen en QSARs
Als voorbeeld laat ik U de resultaten zien van berekeningen uitgevoerd door Lars Ridder in het kader van zijn promotie-onderzoek. Het in dit voorbeeld gekozen enzym is parahydroxybenzoaat hydroxylase, ook wel PHBH genoemd. Dit enzym katalyseert de aromatische hydroxylering van parahydroxybenzoaat tot 3,4-dihydroxybenzoaat, via een geactiveerde vorm van de cofactor, de C(4a)hydroperoxyflavine genoemd. De reactie is een essentiële stap in de verwijdering van het aromatische substraat uit verontreinigde bodem of verontreinigd (oppervlakte)water.
De kristalstructuur van het betrokken enzym, in complex met zijn substraat, was door Willem van Berkel van de

vakgroep Biochemie van de Landbouwuniversiteit, in samenwerking met kristallografen uit Groningen, al opgehelderd toen ik in 1986 bij de vakgroep Biochemie kwam werken (3). Deze kristalstructuur hebben we recent gebruikt om na te gaan wat de energetische effecten zijn tijdens de enzymatische omzetting van het substraat door de geactiveerde C(4a)hydroperoxyflavine vorm van de cofactor in het actieve centrum van het enzym.
Voor deze reactierouteanalyses maken we gebruik van gecombineerde quantummechanische - moleculair mechanische (QM/MM) berekeningen (4,5). Het actieve centrum en met name de C(4a)hydroperoxyflavine cofactor, het substraat en de aminozuren die betrokken zijn bij de reactiechemie, worden benaderd via de quantummechanica. De omliggende eiwitstructuur wordt meegenomen in de berekening, door via de moleculaire mechanica haar invloed op de geometrie van de reactieroute intermediairen te modelleren.
Deze gecombineerde quantummechanische - moleculair mechanische berekeningen geven als uiteindelijk resultaat aan wat het meest gunstige energieprofiel is voor de omzetting van het substraat in het product in het actieve centrum van het enzym. Uit dit profiel volgt dat het een zekere energie-investering vraagt om de zogenoemde activeringsberg te overwinnen en de reactie te laten verlopen.
Via de Arrhenius vergelijking kan deze berekende activeringsenergie vervolgens gerelateerd worden aan de reactiesnelheid en kunnen we uitrekenen hoe snel de reactie zal verlopen.
De op deze wijze voor een aantal substraten van PHBH berekende relatieve activeringsenergie blijkt een goede

relatie te vertonen met de experimenteel gemeten snelheid van omzetting van deze substraten door het enzym (5). We hebben hier dus een QSAR, een kwantitatieve structuur-activiteits-relatie gedefinieerd. Zo'n QSAR biedt de mogelijkheid om voor nog niet geteste substraten hun snelheid van omzetting door het enzym te voorspellen op basis van alleen een computerberekening.
In het onderzoek hebben we de afgelopen jaren vele van dergelijke QSARs gedefinieerd (5-12). Bijvoorbeeld QSARs voor de omzetting van lichaamsvreemde stoffen door cytochromen P450 of glutathion S-transferasen, reacties waarvan het belang voor de toxicologie en de risico-evaluatie door de volgende spreker nader zullen worden toegelicht. Daarnaast hebben we ook QSARs beschreven voor de omzetting van milieuverontreinigende componenten door microbiële enzymen, zoals het zojuist besproken parahydroxybenzoaat hydroxylase of catechol 1,2-dioxygenasen en QSARs voor de effectiviteit van antioxidanten, of de productie van geur- en smaakstoffen met behulp van peroxidasen.
Voor de toxicologische, industriële of milieutechnologische toepassing zal het vaak voldoende zijn een idee te hebben van hoe snel een reactie verloopt. Echter, vanuit fundamenteel wetenschappelijk oogpunt is het daarnaast van belang te constateren dat een dergelijke reactieroute-berekening ook antwoord kan geven op de vraag hoe het enzym de reactie voor elkaar krijgt.
Van iedere intermediaire structuur in de reactieroute, kan exact aangegeven worden, wat de geometrie is en hoe de electronen, de electrofiele - en nucleofiele reactiviteit en de ladingen zijn verdeeld. Met andere woorden: we krijgen een gedetailleerd beeld van alle veranderingen die zich structureel en electronisch voordoen in het com-

plex, terwijl de reactie voortgaat. Zo is bijvoorbeeld na te gaan of groepen geprotoneerd dan wel gedeprotoneerd moeten zijn om tot reactie te kunnen komen, informatie die niet uit de kristalstructuur kan worden verkregen, omdat op basis van een röntgenanalyse de positie van de protonen niet kan worden aangegeven. Zo blijkt voor ons voorbeeld, de PHBH reactie, dat de hydroxylgroep van het substraat moet deprotoneren, dat de distale zuurstof van de C(4a)hydroperoxyflavine geprotoneerd moet zijn en dat tevens een initiële verlenging van de peroxide zuurstof-zuurstof binding noodzakelijk is *om tot een goede verdeling* van de nucleofiele- en electrofiele reactiviteit binnen het complex en dus tot reactie te kunnen komen.
Het zal duidelijk zijn dat in werkelijkheid al deze reactieroute intermediairen vaak veel te instabiel zijn om ze ooit met een experimentele techniek waar te kunnen nemen. Vanuit fundamenteel wetenschappelijk oogpunt bieden de berekeningen dus wellicht de enige mogelijkheid inzicht te krijgen in het mechanisme van reacties en de aard van niet-stabiele overgangstoestanden en reactieroute intermediairen.
Bovendien is via dergelijke benaderingen op voorhand het effect van verandering van een bepaald aminozuur in de structuur, aangebracht via site-directed mutagenese, te analyseren. Dit kan helpen bij het ontwerpen van nieuwe generaties enzymen met betere katalytische eigenschappen.

Toekomst
Momenteel gebruiken we in het onderzoek quantummechanische - en moleculair mechanische berekeningen om de link te leggen tussen theorie en praktijk. De

geschetste benadering zal in de toekomst een rol moeten spelen als aanvullende methode in grootschalige screeningsprocedures in industrieel, maar ook toxicologisch onderzoek. Daarnaast zal het onderzoek bijdragen aan verdere verbreding en verdieping van fundamenteel inzicht in de processen van biokatalyse. De genoemde benadering is momenteel uniek in Nederland, maar samenwerking met laboratoria in Europa en, met name, de Verenigde Staten van Amerika, vormen de basis voor verdere ontwikkeling van de gekozen benadering. Daarbij richten wij ons in Wageningen niet zozeer op de ontwikkeling van de rekenmodellen zelf, maar veeleer op de validatie en het onderzoek naar de mogelijkheden om de ontwikkelde modellen in te zetten voor het oplossen van fundamentele, zowel als toepassingsgerichte vragen omtrent het functioneren en de efficiëntie van enzymen.

Slot

Dames en heren,
In het voorgaande heb ik geprobeerd U een beeld te geven van de fundamentele genoegens, soms ongenoegens, die het werken in onderwijs en onderzoek aan de universiteit in de huidige tijd met zich meebrengen. Ik realiseer me dat juist die huidige tijdgeest ertoe leidt dat de universiteit niet langer de veel beschreven ivoren toren is, maar functioneert in een maatschappelijk en politiek kader en krachtenveld. Eenieder heeft zijn taak in dit veld van krachten en interacties. Daarom zal het ook direct duidelijk zijn dat mijn functioneren samenhangt en afhangt van veel mensen om mij heen.

Hooggeleerde Veeger, beste Cees,
Het is overbodig te zeggen dat ik veel van wat ik vandaag heb bereikt aan jou heb te danken. De weg die je me liet gaan was niet altijd de weg van de minste weerstand, of de meest gemakkelijke. Het was de weg van de wetenschap, inclusief de gevechten en discussies die daar deel van uitmaken. Daarnaast heb je me geleerd oog te hebben voor meer dan de wetenschap, en ook dat is van belang. Kortom, hoewel de onrust die je soms wist te creëren in mijn werk en zelfs mijn vakanties af en toe groot was, kan ik op een dag als vandaag niet anders concluderen dan dat ik je dankbaar ben voor alles wat je voor me hebt gedaan.

Hooggeleerde Koeman, beste Jan,
Bij jouw vakgroep heb ik aan deze universiteit mijn eerste afstudeervak en ook mijn promotie verricht. Ik ben blij dat we nog altijd op gezette tijden van gedachten wisselen over allerlei aspecten van onderwijs en onderzoek in onze verwante vakgebieden. Ik hoop dat dit ook in de toekomst zo zal blijven.

Hooggeleerde Van Bladeren, beste Peter
Gedurende de achterliggende jaren hebben we samengewerkt in een groot aantal projecten in de biochemische toxicologie. Vandaag krijgt deze samenwerking vorm in meer dan gezamenlijke wetenschappelijke publicaties, namelijk in een gemeenschappelijke inaugurele rede.
Ik heb van de samenwerking met jou altijd zeer genoten, omdat hij efficiënt en met veel kennis van zaken verloopt. Ik verwacht deze samenwerking in de toekomst zeker voort te zetten.

Zeergeleerde Alink, beste Gerrit,
Onder jouw leiding heb ik bij de vakgroep Toxicologie voor het eerst gewerkt aan antioxidanten en oxidatieve stress, eerst in het kader van een afstudeervak en later tijdens mijn promotie-onderzoek. De opgedane kennis blijkt nog altijd relevant. Ik ben je dankbaar voor de vriendschap die in die jaren werd opgebouwd en die nog altijd bestaat.

Hooggeleerde Laane, beste Colja,
Sinds jij twee jaar geleden opnieuw naar Wageningen kwam, als leerstoelhouder Biochemie, hebben we samen een aantal nieuwe lijnen van onderzoek opgezet, zoals bijvoorbeeld het QSAR werk aan antioxidanten. Ik waardeer de steun en ruimte die je me geeft binnen jouw leerstoelgroep. Ik hoop dat we in de toekomst onze gezamenlijke ideeën en plannen op het gebied van de biochemie waar kunnen maken.

Collega's van de leerstoelgroep Biochemie,
In de jaren die ik intussen met jullie op de Landbouwuniversiteit binnen de vakgroep, nu leerstoelgroep, Biochemie heb doorgebracht is er veel veranderd. Wat echter altijd is gebleven is de bereidheid om samen te werken aan het vinden van antwoorden op vragen van wetenschappelijke, praktische of persoonlijke aard. Het werken in teamverband is voor het doen van goed wetenschappelijk onderzoek en het geven van goed wetenschappelijk onderwijs een voorwaarde. Ik ben eenieder van jullie dankbaar die, ook in de toekomst, samen met mij wil werken aan de ontwikkeling van onderwijs en onderzoek in de biochemie binnen Wageningse en internationale kaders.

Met name wil ik vanaf deze plaats Marelle Boersma, Ans Soffers en Sjef Boeren bedanken. Jullie steun en inzet voor het onderwijs en onderzoek in de werkgroep is essentieel en heeft bijgedragen aan het werk van de vele studenten, promovendi en post-docs die in de loop der jaren onze werkvloer hebben gedeeld.

Dames en heren studenten,
Jullie blijven altijd jong, nieuwsgierig en vol idealen. Ik hoop dat ik er aan bij zal kunnen dragen dat jullie verblijf aan deze universiteit meer wordt dan een jacht op studiepunten en dat de studietijd in alle opzichten zal helpen jullie verwachtingen en idealen waar te maken.

Beste familie en vrienden,
Ik ben blij dat jullie de moeite hebben genomen vandaag hier te komen om iets over mijn werk te horen. Speciaal mijn ouders wil ik bedanken voor het feit dat zij mij altijd hebben gesteund en gestimuleerd om mijn eigen studie en werk te doen. Het levert uiteindelijk een druk leven op, waarin ik niet altijd de tijd heb om te zeggen wat ik zou willen zeggen. Maar vandaag dan toch een moment om jullie te bedanken voor jullie liefde en steun.

Tenslotte,
Jacques, een woord voor jou is op zijn plaats. Jouw steun, op alle fronten, is onmisbaar. Jij en onze twee zonen, Max en Kevin, dragen voor mij persoonlijk het meeste bij aan de fundamentele genoegens in mijn leven en werk. Ik hoop dat dat nog lang zo zal zijn.

Mijnheer de Rector Magnificus, dames en heren
Ik dank U voor Uw interesse en aandacht.

referenties

1 Dubelaar, J., Erftemeijer, A., In: 'Hier pleeg ik een grap te vertellen' Professorenanekdotes. Bosch & Keuning nv Baarn (1986) p.60.

2 Poulos, T.L., Finzel, B.C., Gunsalus, I.C., Wagner, G.C., Kraut, J., The 2.6-Å crystal structure of Pseudomonas putida cytochrome P-450. J. Biol. Chem. 260 (1985) 16122-16130.

3 Wierenga, R.K., de Jong, R.J., Kalk, K.H., Hol, W.G., Drenth, J., Crystal structure of p-hydroxyben zoate hydroxylase. J. Mol. Biol. 131 (1979) 55-73.

4 Field, M.J., Bash, P.A., Karplus, M., A combined quantum mechanical and molecular mechanical potential for molecular dynamics simulations. J. Comp. Chem. 11 (1990) 700-733.

5 Ridder, L., Mulholland, A., Vervoort, J., Rietjens, I.M.C.M., Correlation of calculated activation energies with experimental rate contants for an enzyme catalyzed aromatic hydroxylation (submitted).

6 Vervoort, J., Rietjens, I.M.C.M., Van Berkel, W.J.H., Veeger, C., Frontier orbital study on the 4-hydroxybenzoate-3-hydroxylase dependent activity with benzoate derivatives. Eur. J. Biochem., 206 (1992) 479-484.

7 Rietjens, I.M.C.M., Soffers, A.E.M.F., Veeger, C., Vervoort, J., Regioselectivity of cytochrome P450 catalyzed hydroxylation of fluorobenzenes predicted by calculated frontier orbital substrate characteristics. Biochemistry, 32 (1993) 4801-4812.

8 Cnubben, N.H.P., Peelen, S., Borst, J.W., Vervoort, J., Veeger, C., Rietjens, I.M.C.M., Molecular orbital based quantitative structure activity relationship for the cytochrome P450 catalyzed 4-hydroxylation of

halogenated anilines. Chem. Res. Toxicol. 7 (1994) 590-598.

9 Rietjens, I.M.C.M., Soffers, A.E.M.F., Hooiveld, G., Veeger, C., Vervoort C., Quantitative structure activity relationships (QSAR's) based on computer calculated parameters for the overall rate of glutathione S-transferase catalyzed conjugation of a series of fluoronitrobenzenes. Chem. Res. Toxicol., 8 (1995) 481-488.

10 Soffers, A.E.M.F., Ploemen, J.H.T.M., Moonen, M., Wobbes, T., Van Ommen, B., Vervoort, J., Van Bladeren, P.J., Rietjens, I.M.C.M., Regioselectivity and quantitative structure activity relationships (QSARs) for the conjugation of a series of fluoronitrobenzenes by purified glutathione S-transferase enzymes from rats and man. Chem. Res. Toxicol., 9 (1996) 638-646.

11 Tyrakowska, B., Cnubben, N.H.P., Wobbes, Th., Rietjens, I.M.C.M., Extrapolation of MO-QSAR's obtained for the cytochrome-P450 catalysed biotransformation of halogenated benzene derivatives from rats to other species including man. Chem.-Biol. Interact., 100 (1996)187-201.

12 Van Haandel, M.J.H., Rietjens, I.M.C.M., Soffers, A.E.M.F., Veeger, C., Vervoort, J., Modi, S., Mondal, M.S., Patel, P.K., Behere, D.V., Computer calculation-based quantitative structure-activity relationships for the oxidation of phenol derivatives by horseradish peroxidase compound II. JBIC, 1 (1996) 460-467.

UITZICHT OP TOEPASSING

Dames en heren, zeer gewaardeerde toehoorders,

Inleiding

Een oratie wordt in principe uitgesproken als begin van een bestaan als hoogleraar. Dat is deze keer iets anders, de positie van hoogleraar Toxicokinetiek en Biotransformatie bestaat al vijf jaar, maar is kortgeleden voor vijf jaar verlengd, zodat er toch sprake is van een soort nieuw begin. Ik heb nu ook de kans om niet alleen vol enthousiasme nieuwe plannen aan u voor te leggen, maar ook onderwijs en onderzoek in perspectief te presenteren. Ik vertrouw erop u duidelijk te maken dat het bestaan van een 0,0 hoogleraar zeker niet zo leeg is als de term wellicht doet vermoeden.

Het perspectief dat ik u wil schetsen zal zich in twee richtingen uitstrekken:

Ten eerste hoop ik u, in vervolg op de vorige spreker, te laten zien dat voor goed, toegepast, multidisciplinair onderzoek een stevige, monodisciplinaire, fundamentele basis noodzaak is en misschien wel vooral, dat een toekomstige toepassing als doel tot uitstekend fundamenteel onderzoek kan leiden. De enzymsystemen die u in het afgelopen half uur de revue hebt zien passeren en waar zulk mooi werk aan is gedaan door collega Rietjens, spelen een belangrijke rol in de potentiele toxische effecten van stoffen maar ook in het therapeutisch effect van geneesmiddelen en het positieve effect op de gezondheid van talloze zgn "non-nutritive dietary compounds". De uitdaging ligt in de juiste keuzes voor fundamenteel onderzoek enerzijds en een efficiënte toepassing van nieuwe kennis anderzijds.

Ten tweede zal ik u laten zien dat een structurele samenwerking tussen de Landbouwuniversiteit en het onder-

zoeksinstituut TNO Voeding voor de relaties van beide organisaties, de studenten en het bedrijfsleven buitengewoon nuttig is, maar gezien voor de hand liggende verschillen in cultuur niet zonder inspanning van beide kanten tot stand komt. Juist in deze periode waarin KCW vorm aan het krijgen is, een relevant onderwerp. Het is interessant om de wijze waarop een "niet-Wagenings" instituut tracht hier vorm aan te geven nog eens tegen het licht te houden.

Toxicokinetiek en biotransformatie

De toxicologie, waar biotransformatie en kinetiek een essentieel deelgebied van is, is bij uitstek een toegepaste wetenschap, hoe diepgravend ook beoefend. Een te onderzoeken stof moet altijd aanleiding geven tot negatieve effecten op de gezondheid van mens of dier of een model vormen voor zulke effecten. Juist door nieuwe inzichten, in bijvoorbeeld de werking van bepaalde enzymen, ontstaat een beter begrip van de mechanismen die aan de toxische effecten ten grondslag liggen. Omgekeerd levert het oplossen van een specifiek probleem vaak algemene inzichten en geeft de verstoring van de normale fysiologie van een cel door een toxische stof vaak een goed beeld van fysiologische processen.
Vijfentwintig jaar geleden maakte professor Koeman in zijn oratie al duidelijk dat de toxicologie zich bezig houdt met de preventie van vergiftigingen en derhalve met de evaluatie van toxicologische risico's ofwel de risicoschatting (1).
Voordat een stof zijn effect uit kan oefenen moet hij de daarbij betrokken receptor bereiken.
Daartoe dienen op zijn minst een aantal membranen gepasseerd te worden en de processen die daar een rol

bij spelen, kunnen zich dan ook verheugen in een hernieuwde grote belangstelling, niet in het minst omdat transporters, zoals het Multidrug Resistance-associated Protein of de GSX pomp, betrokken lijken te zijn bij de resistentie die sommige tumorcellen ontwikkelen tegen cytostatica, de geneesmiddelen waarmee ze behandeld worden (2).
Tijdens het verblijf van een (lichaamsvreemde) stof in het lichaam is deze stof onderhevig aan tal van processen die gezamenlijk beschreven worden met de term kinetiek. Belangrijkste fenomeen daarvan is de verandering van de concentratie in de tijd, waardoor uiteindelijk de duur en de hevigheid van de interactie van de stof met zijn doelmolecuul en dus van het therapeutisch of toxisch effect worden bepaald. In verreweg de meeste gevallen worden lichaamsvreemde stoffen niet onveranderd uitgescheiden, maar vindt biotransformatie plaats. Een aantal enzymsystemen poogt de stof beter wateroplosbaar te maken en zo gemakkelijker uit te scheiden. Niet alleen worden stoffen op deze wijze onschadelijk gemaakt (detoxicatie), ook worden er nog al eens metabolieten gevormd met een grotere reactiviteit dan de uitgangsstof (activatie) en deze metabolieten zijn vervolgens verantwoordelijk voor het toxische effect.
Dezelfde enzymsystemen die verantwoordelijk zijn voor de omzetting van lichaamsvreemde stoffen, zijn ook betrokken bij het metabolisme van verbindingen die in het lichaam thuishoren, zijn essentieel voor een goed functioneren van een organisme. Bekende voorbeelden hiervan zijn verschillende types onverzadigde vetzuren en steroïden.
Hiermee kom ik op de relatie met voeding. Die is niet nieuw: een eerdere dubbeloratie aan de

Landbouwuniversiteit vond vijfentwintig jaar geleden plaats toen de hoogleraren Koeman en Hautvast zich gezamenlijk presenteerden (1). De recente belangstelling voor positieve inhoudsstoffen, voedingsbestanddelen die een preventief effect hebben op met name kanker, hart- en vaatziekten en veroudering, komt voor een niet gering deel voort uit de realisatie dat beïnvloeding van biotransformatieprocessen door dit type stoffen een gezondheidsbevorderend effect kan hebben (3). Hiermee wordt "voeding" nog niet direct alleen "negatieve toxicologie", maar de relatie tussen beide vakgebieden blijft onmiskenbaar.
Zoals gezegd houdt de toxicologie zich vooral bezig met de inschatting van de risico's van stoffen voor de mens. Centraal daarbij staat de al door Paracelsus op waarde geschatte dosis-effectrelatie. De uitdagingen voor de toxicologie van vandaag laten zich aan de hand van die relatie goed beschrijven. Met betrekking tot de dosis gaat het om de extreme gevallen. Wat is het gevolg van een kortdurende blootstelling aan zeer hoge concentraties, zoals bij een explosie. Na de ramp met methyl isocyanaat bij Bhopal werden naast de acute effecten ook later optredende systemische effecten gevonden. Deze bleken het gevolg van een "opslag" van het zeer reactieve methyl isocyanaat in de vorm van glutathion conjugaten, die later weer uit elkaar vielen onder terugvorming van het isocyanaat (4).
Wat is het gevolg van een langdurige blootstelling aan lage concentraties, waarbij effecten pas na vele jaren zichtbaar worden? Voor de voorspelling van zulke effecten zijn de klassieke toxicologische onderzoeksmethodes niet zonder meer geschikt.
Blootstelling vindt alleen in het laboratorium aan één

stof tegelijk plaats. In werkelijkheid, in onze voeding, in de lucht die we inademen, gaat het om vaak complexe mengsels van stoffen. De wetmatigheden waaraan zulke situaties voldoen beginnen heel langzaam bekend te worden, niet in het minst dankzij enkele dappere onderzoekers van TNO Voeding: prof. Feron en dr. Groten (5). In de formele risicoschatting, zoals die door de overheid gevraagd wordt, wordt met deze wetmatigheden nog geen rekening gehouden.
Kijken we naar de effectkant, dan zijn er twee dingen belangrijk. Indien het werkingsmechanisme van een stof bekend is, kan een risicoschatting en vooral de extrapolatie van proefdier- en in vitro gegevens met veel meer zekerheid gebeuren.
Bovendien is het dan in principe mogelijk om een klasse van verbindingen in haar geheel te beoordelen met behulp van QSAR's, zoals u in het vorige half uur gehoord heeft. Ten tweede, het is iedereen duidelijk dat mensen onderling grote verschillen vertonen. Dat geldt natuurlijk ook voor biotransformatie- enzymen, en een methode om met die verschillen echt rekening te houden zou het mogelijk maken niet meer het risico voor de gemiddelde mens, maar voor de individuele mens vast te stellen en dat is wat iedereen wil weten: zijn eigen risico, of dat van zijn buurman!

Interindividuele verschillen in biotransformatie
Verschillen in biotransformatiecapaciteit hebben verschillende oorzaken. De meeste biotransformatie-enzymen bestaan als families van enzymen, met een grote mate van overeenkomst tussen de leden van een familie, maar ook met essentiële verschillen in substraatselectiviteit en regulatie. Voor deze verschillen zijn een

aantal oorzaken aan te wijzen.
Genetische verschillen zijn er op twee niveaus. Zij ontstaan door mutaties in de codering voor de enzymen zelf, die kunnen leiden tot een veranderde activiteit - zoals bekend voor de humane glutathion transferase van de klasse pi - of totale afwezigheid, zoals bekend voor de humane glutathion transferases mu en theta en CYP2D6 en CYP2C19. Deze laatste genetische deficiëntie speelt bijvoorbeeld bij de bevolking in Japan veel meer een rol dan in Europa (6). Genetische verschillen ontstaan ook door verschillen in induceerbaarheid. De expressie van humaan glutathion transferase pi wordt onder andere geregeld door een antioxidant responsive element (ARE). Mutaties in de ARE, maar ook in de transcriptiefactor die aan het ARE moet binden, leiden tot verschillen in respons op de aanwezigheid van antioxidanten.
Phenotypische verschillen zijn het gevolg van exogene factoren waar het individu aan is blootgesteld. Deze variëren van typische milieucontaminanten zoals de PCB's en dioxines, waar de vakgroep Toxicologie van deze universiteit zulk succesvol onderzoek naar doet, tot voedingsmiddelen zoals het spruitje of het glas grapefruitsap. PCB's induceren onder andere CYP1A1, de isothiocyanaten in spruitjes induceren glutathion transferase alpha en naringenine, een flavonoid uit grapefruit sap remt CYP3A4 (3).
In de dia wordt getoond op welke wijze een chinon, in dit geval een niet-natuurlijke verbinding aan rat glutathion transferase 3,3 remt door covalente binding op de substraat bindingsplaats. De opheldering van dit mechanisme was slechts mogelijk door een samenwerking met prof. Armstrong, biochemicus uit de Verenigde Staten en

prof. Van der Greef, één van de zeer goede analytici van TNO Voeding (7).
Het huidige promotieonderzoek van Marlou van Iersel is vooral gericht op de inhibitie-karakteristieken van glutathion transferase pi. Beide subunits van dit enzym hebben een cysteïne residue op plaats 47 waaraan zeer gemakkelijk electrofielen binden. Als zo'n reactie plaatsvindt met een alpha, beta-onverzadigd keton is zij reversibel, dus het electrofiel kan er weer af. Eén van de werkhypotheses is dat deze reactie iets met de regulatie van de enzym-activiteit te maken heeft (8).
De wijze waarop een individu leeft bepaalt derhalve de effectiviteit van zijn biotransformatie-systeem en de gevolgen die dit heeft voor zijn individuele gevoeligheid voor toxische stoffen. Het mag inmiddels geen verrassing meer zijn dat voedsel de grootste bron van dit type stoffen is en dan bedoel ik niet alleen wat ook wel de genotmiddelen genoemd werden.
In de relatie voeding en gezondheid spelen de hierboven beschreven effecten misschien wel een grotere rol dan in de toxicologie in engere zin.
Het is daarom een zeer goede zaak dat voeding en gezondheid, inclusief de moleculaire mechanismen die daar een rol in spelen, één van de drie thema's is van het net opgerichte Topinstituut Voedselwetenschappen, waarin zowel LUW als TNO Voeding vertegenwoordigd zijn en evenzo dat NWO een programma voeding-gen interacties heeft gehonoreerd.
Naast de studie van de gevolgen van interindividuele variatie, is het nu vooral zaak om de oorzaken van interindividuele verschillen in gevoeligheid te bepalen en met die kennis gewapend gerichte preventie te doen. De wijze waarop enzyminductie tot stand komt is slechts in

een incidenteel geval bekend en is onderwerp van studie in vele laboratoria op dit moment. Als die mechanismen bekend zijn zal het mogelijk worden een receptor-based screenings-systeem op te zetten waarmee snel en zeker deze eigenschap voor tal van bijvoorbeeld anti-oxidanten gemeten kan worden.

Physiologically-based pharmacokinetic modelling
In het bovenstaande is besproken dat biotransformatie een complexiteit van reacties betreft waarin zowel activering en detoxicatiereacties gekatalyseerd worden, door per individu verschillend samengestelde families van enzymen. De balans van al die processen bepaalt de concentratie actieve stof of reactieve metaboliet waaraan een individu wordt blootgesteld en daarmee het nuttig effect van een geneesmiddel of het nadelig effect van een toxische stof. Sinds de tachtiger jaren is het zogenaamde physiologically-based pharmacokinetic modelling ontwikkeld. Met deze methode is het mogelijk om de kinetiek en dus de concentratie actieve stof in het doelorgaan te modelleren over een groot concentratiegebied. Als er een kwantitatieve relatie bestaat tussen concentratiestof en effect kunnen op deze wijze ook effecten voorspeld worden (9). Succesvolle toepassingen zijn vooral bekend voor de extrapolatie van gegevens van de ene species naar de andere, zoals van proefdier naar mens. Zo werd voor het metabolisme van het oplosmiddel methyleen chloride vastgesteld dat door glutathion conjugatie een carcinogene metaboliet wordt gevormd, dat deze route in de muis belangrijk is maar in de rat en de mens veel minder. De rat vormt in dit geval een beter model voor de mens dan de muis en risicoschatting kan dus worden gebaseerd op de resultaten die bij de rat

worden gevonden. Gebruik makend van dezelfde principes, dus uitgaande van de parameters bepaald voor individuele enzymen kunnen ook de gevolgen van interindividuele verschillen worden bepaald.
Recent onderzoek naar het metabolisme van isopreen, in Zeist uitgevoerd door Jan Bogaards, vormt een illustratie van de situatie waarin verschillende enzymsystemen gezamenlijk bepalen wat het uiteindelijk effect zal zijn. Isopreen is een grondstof voor rubber, maar wordt ook endogeen geproduceerd in ratten, muizen en mensen. Isopreen wordt door cytochroom P450 omgezet in twee verschillende epoxides, die verder worden gemetaboliseerd tot een diepoxide. Bij deze oxidatiestappen is maar één isoenzym betrokken, namelijk CYP2E1. De concentratie van de monoepoxides wordt ook bepaald door twee andere vervolgreacties: via epoxide hydrolase wordt een diol gevormd en via glutathion transferase een glutathion conjugaat. De epoxide hydrolase reactie is vijftien maal efficiënter in de mens dan in de muis en tienmaal efficienter dan in de rat (10).
Met betrekking tot de glutathion conjugatie is de situatie omgekeerd: de rat is vier tot tienmaal sneller dan de mens. Kijken we echter naar de isoenzymen die bij die reactie betrokken zijn dan is de zaak iets genuanceerder. De voornaamste isoenzymen zijn theta en mu, waarvan bekend is dat ze genetisch polymorf zijn. Er is dus een aanzienlijke groep mensen die de epoxides van isopreen veel minder goed zullen verwijderen.
Het gebruik van een PBPK model samen met in vitro bepaalde parameters voor de betrokken biotransformatie enzymen wordt het mooist geillustreerd met ons onderzoek aan de model verbinding ethyleen dibromide. Dit project is een samenwerking met Prof. Vermeulen van

de Vrije Universiteit, waarmee ik twintig jaar geleden ook al deze zelfde verbinding onderzocht. Ethyleen dibromide werd veel gebruikt bijvoorbeeld als anti-klopmiddel in benzine en is carcinogeen in proefdieren. Metabolisme vindt plaats via twee routes, conjugatie gekatalyseerd door glutathion transferases en oxidatie via cytochroom P450. De conjugatie reactie leidt tot een reactief glutathion conjugaat, een verbinding met dezelfde eigenschappen als mosterdgas. Het reactieve intermediair is een episulfoniumion dat efficient met DNA reageert en zeer waarschijnlijk verantwoordelijk is voor het carcinogene effect. De vragen zijn dus: hoe belangrijk de conjugatie route in de mens is, kunnen we dit voorspellen en wat is de interindividuele variatie die daarbij optreedt.
Een aantal glutathion transferase isoenzymen vertonen activiteit ten opzichte van ethyleen dibromide. De polymorfe theta klasse heeft de hoogste activiteit voor zowel de rat als de mens, maar omdat er in de lever veel meer alpha klasse enzym voorkomt spelen deze een belangrijkere rol in de omzetting van ethyleen dibromide. Bij de oxidatieroute is de zaak eenvoudiger, alleen CYP2E1 speelt een rol, zowel bij de rat als de mens- maar juist voor dat enzym zijn grote interindividuele verschillen bekend.
De "key-enzymes" zijn nu bekend, het is nu zaak ze in een PBPK model samen te stellen. Dit gebeurt door eerst op te schalen naar de hele lever, die stap te controleren in vitro met humaan levermateriaal en vervolgens uit die lever een hele rat of een heel mens op te bouwen in de computer.
Ook deze stap kan worden gecontroleerd, in de rat. De waarden, gevonden voor de plasmaconcentratie van

ethyleen dibromide, komen goed overeen met de voorspelling.
We kunnen nu voor de mens voorspellen wat de relatieve bijdrage van de verschillende betrokken enzymen zal zijn en we kunnen berekenen hoe dat er in extreme situaties uitziet. Van eenentwintig humane levermonsters werd voor degene met het hoogste gehalte aan glutathion transferase en het laagste gehalte aan P450 voorspeld dat er anderhalf maal meer conjugatieproduct zou worden gevormd dan voor de gemiddelde mens. In de omgekeerde situatie konden we laten zien dat zelfs bij zeer lage concentraties ethyleen dibromide en hoge gehaltes P450 de conjugatieroute echter significant aanwezig blijft (11).

Door de identificatie van de sleutelenzymen in de biotransformatie van een bepaalde stof, opschaling van de kinetische gegevens en inpassing in het zojuist beschreven PBPK model, is het mogelijk inzicht te krijgen in het belang van de verschillende routes, maar vooral om inzicht te krijgen in de spreiding die verwacht kan worden in een hele populatie en daarmee de grenzen van de risico's vast te stellen. Op dezelfde wijze kunnen ook interspeciesverschillen worden bestudeerd.
Voor deze zeer praktische en uiterst noodzakelijke toepassingen is fundamenteel inzicht in de eigenschappen van die enzymen en fundamenteel inzicht in de mechanismen die interindividuele verschillen bepalen, onontbeerlijk.

Toekomst
Een van de veel gehoorde verzuchtingen onder toxicologen is dat er zoveel stoffen nog onvoldoende bestudeerd

zijn en dat een mechanism-based risk estimate derhalve een uitzondering zal blijven. Ik meen dat we aan de vooravond van een revolutie in de toxicologie staan, waarin door een combinatie van QSAR's, PBPK modelling, verder gaande genotypering, genexpressiesystemen en gebruik makend van de methoden voor high en medium throughput screening zoals die in de farmaceutische industrie toepassing beginnen te vinden, het mogelijk zal zijn die grote hoeveelheid stoffen wél zorgvuldig te bekijken en hun negatieve eigenschappen in te schatten. Overigens zullen diezelfde methoden dan kunnen worden gebruikt voor opsporing van positieve eigenschappen in de voeding, waaruit eens te meer blijkt dat beide gebieden nog veel aan elkaar kunnen hebben.

Fundamenteel en toegepast

Ik kom nu aan het tweede perspectief van deze oratie. De voorbeelden die ik u heb geschetst maken duidelijk dat voor een zo optimaal mogelijk antwoord op een toegepaste vraagstelling fundamenteel inzicht noodzakelijk is. Een methode om dat te bereiken ligt voor de hand en wordt veel gebruikt: de bezitter van zo'n vraagstelling gaat "shoppen" en zoekt de universiteiten en instituten van de wereld af naar de fundamentele kennis die voor de oplossing van zijn probleem noodzakelijk is. Daar is niets tegen, maar daarmee wordt een antwoord wel voor een groot deel aan het toeval overgelaten. Een betere oplossing is natuurlijk de kennisinfrastructuur zodanig te organiseren dat vraag en antwoord op een vanzelfsprekende wijze bij elkaar komen. Over dat onderwerp hebben buitengewoon verstandige mensen al heel veel gezegd en dat betekent meestal dat er geen eenduidige, voor de hand liggende oplossing is.

TNO heeft al lange tijd geleden als oplossing gekozen voor formele samenwerking met universiteiten. De benoeming van een TNO'er als hoogleraar is daar de eenvoudigste vorm van. Een volgende stap is de vorming van een gemeenschappelijk onderzoekscentrum, zoals hier in Wageningen het Centrum voor Eiwittechnologie. In zo'n centrum wordt een onderwerp van gezamenlijk belang voor TNO en universiteit bewerkt door een substantiële groep onderzoekers. Naast de generatie van nieuwe kennis fungeren deze samenwerkingsverbanden als doorgeefluik, voor vragen van industrie en overheid richting universiteit en voor nieuwe ontwikkelingen in de onderzoekswereld van universiteit naar TNO en verder. De organisatie voor toegepast onderzoek die TNO is, fungeert dan als vertaler in beide richtingen.
Welke algemene conclusies laten zich vanuit deze specifieke voorbeelden trekken.
Ten eerste blijft het in iedere researchorganisatie zo dat de onderzoekers de essentiele factor zijn. De juiste mensen met de juiste instelling bij elkaar brengen en ze met elkaar laten communiceren is een absolute voorwaarde. De eenvoudigste organisatievorm die dit bereikt is waarschijnlijk een pot koffie op een centrale plaats!
Belangrijk is ook dat de gezamenlijke kennis op beide plaatsen "opgevangen" wordt en ingepast in het overige werk. Dit geldt in sterke mate voor het Topinstituut Voedselwetenschappen: de kennis die daar gegenereerd zal worden, moet door de betrokken kennisinstellingen vertaald kunnen worden in toepassingen, maar ook in gerelateerde fundamentele vraagstellingen. Het communicatieproces moet goed georganiseerd zijn.
Nu spelen er nog twee andere problemen. De kloof tus-

sen wetenschap en industrie heeft de vorige spreker al genoemd. Hoe smal of breed die kloof ook is, Nederland verkeert in de gelukkige situatie dat er speciale overbruggingsorganisaties bestaan: TNO en ook DLO. Deze organisaties kunnen zich de problemen van de industrie eigen maken en richten zich op contractonderzoek in de competitieve sfeer, ze werken op vertrouwelijke basis en worden afgerekend in guldens, niet in aantallen publicaties en citation index. Het eerdergenoemde centrum, het Topinstituut Voedselwetenschappen en de Landbouwuniversiteit zijn toegerust voor precompetitief onderzoek, waar sturing van de problemen door de industrie en de maatschappij als geheel zeer gewenst is, maar niet de toepassing bepaalt. Daarmee komt ook duidelijkheid over de verschillen tussen universiteiten en organisaties voor toegepast onderzoek in zicht. Afbakening van gebieden leidt altijd tot grensconflicten en competitie. Allerlei mensen gaan zich verdedigend opstellen. Afbakening van missies, wat zijn de doelstellingen van beide typen organisaties, leidt echter tot een samenwerking op basis van sterktes en dus tot meerwaarde voor beide partijen. Voor de universiteit betekent dit een nadruk op de kwaliteit van de basisvakken, in TNO-termen de technologieplatforms, en op de kwaliteit van de (praktische, toegepaste) doelstellingen. Ik zal met veel plezier de komende vijf jaar hier een bijdrage aan leveren. Voor de studenten, die hier de belangrijkste bevolkingsgroep vormen, levert de combinatie van missie verduidelijking en samenwerking tussen fundamenteel en toegepast werkende organisaties de best mogelijke omgeving op, voor de maatschappij als geheel de meest efficiënte en effectieve oplossingen voor technologische vraagstellingen.

Slot

Dames en heren,
Ik heb gepoogd u twee perspectieven te schetsen:
Ten eerste dat voor goed, toegepast, multidisciplinair onderzoek in de toxicologie een monodisciplinaire, fundamentele basis noodzaak is en dat een toekomstige toepassing als doel tot uitstekend fundamenteel onderzoek kan leiden.
Ten tweede dat een structurele samenwerking tussen de Landbouwuniversiteit en het onderzoeksinstituut TNO Voeding voor de "klanten" van beide organisaties, de studenten en het bedrijfsleven, buitengewoon nuttig kan zijn. De uitdaging ligt in de juiste keuzes voor fundamenteel onderzoek enerzijds en een efficiënte toepassing van nieuwe kennis anderzijds.

Meneer de Rector, geachte leden van het bestuur van het LIFT fonds, geachte leden van het College van Curatoren,
Ik ben u zeer erkentelijk voor het door u getoonde vertrouwen in mij dat geleid heeft tot mijn benoeming en de verlenging daarvan. Hooggeleerde Breimer, het doet mij groot genoegen nu, zoveel jaren na mijn promotieonderzoek onder jouw leiding, mijn universiteire werkzaamheden weer onder je toezicht te laten plaatsvinden. Bovendien zal ik je verbaasde gezicht, toen je duidelijk werd dat ik echt op serieuze toon het woord kinetiek uitsprak niet snel vergeten.

Geachte leden van de Raad van Bestuur van TNO,
Ik ben u buitengewoon dankbaar voor uw inspanningen de relatie tussen TNO en de universiteiten te bevorderen, en mij in de gelegenheid te stellen daar persoonlijk deel

van uit te maken. Zeergeleerde Folstar, dit geldt dan zeer in het bijzonder voor jou. Ik stel onze manier van samenwerken, zoals die al sinds 1994 plaatsvindt zeer op prijs en ik weet zeker dat we daar nog jaren mee door gaan.

Collega's van de leerstoelgroep Toxicologie en andere onderdelen van de Landbouwuniversiteit,
Het doet mij groot genoegen mij als een van jullie te kunnen beschouwen. Dat geldt zeer zeker voor de leden van de vakgroep Toxicologie, waar ik sinds mijn vertrek naar TNO in 1987 eigenlijk nooit weg ben geweest. Hooggeleerde Koeman, al vele jaren bespreken wij samen de problemen in de toxicologie en de rest van de wereld. Ik hoop van harte dat wij dat nog vele jaren op even vruchtbare en plezierige wijze zullen blijven doen. Hooggeleerde Rietjens, je scherpe geest en bijzondere daadkracht maken onze samenwerking al sinds 1984 een genoegen, misschien wel een fundamenteel genoegen. Wij zullen hier in de toekomst zeker mee door gaan.

Collega's van TNO Voeding,
U weet allen wat er allemaal gevraagd wordt van een medewerker van TNO Voeding. Meemaken hoe u daar allen vorm aan geeft is een voorrecht. Met een aantal van u heb ik ook in het kader van onderzoeksprojecten nog regelmatig te maken. Ik zal trachten door de samenwerking met de Landbouwuniversiteit ook voor u weer nieuwe kansen te scheppen. Hooggeleerde Feron, onder uw leiding heb ik TNO leren kennen en wij werken nog steeds samen.
Dames en heren studenten,
Contact met u houdt wetenschappers scherp, door steeds

opnieuw uitgedaagd te worden. Via mij worden wellicht de toepassingen van uw studieresultaten wat dichterbij gebracht. Ik zal trachten u daarbij de fundamentele uitdagingen niet te doen vergeten. Het moet een genoegen blijven om te studeren.

Beste familie en vrienden,
Dank voor jullie aanwezigheid hier en voor de liefde en steun die ik van jullie mocht ontvangen
Lieve Marijke, zonder jou gaat het niet, dat weet je.

Ik heb gezegd

referenties

1 Koeman,J.H., Hautvast,J.G.A.J., Iedere hap een verkeerde stap? Inaugurele rede Landbouwhogeschool Wageningen, 1 mei 1974.

2 Zaman, G.J.R., Cnubben,N.H.P., Van Bladeren,P.J., Evers,R., and Borst,P. Transport of the glutathione conjugate of ethacrynic acid by the human multidrug resistance protein MRP. FEBS Letters 391, 126-130 (1996)

3 Verhagen,V.J.,Rompelberg,C.J.M.,Strube,M.,Van Poppel,G., and Van Bladeren,P.J. Cancer prevention by dietary constituents in toxicological perspective, J.Environm.Path.Toxicol.Onc., 16,343-360(1997)

4a Baillie, T.A., Kassakum, K. Reversibility in glutathione conjugate formation. Adv. Pharmacol. 26, 163-181 (1994)

4b Bruggeman, I.M., Temmink, J.H.M. and Van Bladeren, P.J. Glutathione and cysteine mediated cytotoxicity of allyl and benzyl isothiocyanate. Toxicology Appl. Pharmacol. 83, 349-359 (1986.

5 Feron,V.J., Groten,J.P., and Van Bladeren,P.J. Exposure of humans to complex chemical mixtures: hazard identification and risk assessment. Arch.Toxicol. In press.
6 Miller,M.S., McCarver,D.G., Bell,D.A., Eaton, D.L.,and Goldstein,J.A., Genetic polymorphisms in human drug metabolizing enzymes. Fund.Appl.Toxicol. 40,1-14 (1997).
7 Jespersen., Ploemen,J.H.T.M, Van Bladeren, P.J., Niessen,W.M.A., Tjaden,U.R., and Van der Greef,J. Identification of multiple target sites for a glutathione conjugate on glutathione S-transferase by matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. J.of Mass Spectr. 31,101-107 (1996).
8 Van Iersel,M.L.P.S., Ploemen,J.H.T.M., Struik,I., van Amersfoort,C., Keijzer,A.E., Schefferlie, J.G., and Van Bladeren,P.J., Inhibtion of glutathione S-transferase activity in human melanoma cells by alpha,beta-unsaturated carbonyl derivatives. Chem.Biol. Interact. 102,117-132 (1996).
9 Hissink,A.M.,Van Ommen,B., Kruse,J., and Van Bladeren,P.J., A physiologically-based pharmacokinetic model for 1,2-dichlorobenzene linked to two possible parameters of toxicity. Toxicol.Appl.Pharmacol. 145, 301-310 (1997).
10 Bogaards,J.J.P., Venekamp,J.C., and Van Bladeren, P.J. The biotransformation of isoprene and the two isoprene monoepoxides by human cytochrome P450 enzymes, compared to mouse and rat liver microsomes. Chem.Biol.Interact. 102,169-182 (1996)
11 Ploemen,J.H.T.M., Wormhoudt,L.W., Haenen,G.R.M.M., Oudshoorn,M.J., Commandeur,J.N.M., Vermeulen,N.P.E., DeWaziers,

I., Beaune,P.H., Watabe,T., and Van Bladeren,P.J.,
The use of human in vitro metabolic parameters to
explore the risk assessment if hazardous compounds:
the case of ethylene dibromide.
Tox.Appl.Pharmacol. 143,56-69 (1997)