



..... Translationele Toxicologie:

de mens als proefdier?

PROF. DR. R.A. WOUTERSEN

Inaugurele rede bij de aanvaarding van het ambt van
buitengewoon hoogleraar Translationele Toxicologie
aan Wageningen Universiteit op 23 april 2009



WAGENINGEN UNIVERSITEIT

WAGENINGEN UR

Translationele Toxicologie: de mens als proefdier?

PROF. DR. R.A. WOUTERSEN

Inaugurele rede bij de aanvaarding van het ambt van
buitengewoon hoogleraar Translationele Toxicologie
aan Wageningen Universiteit op 23 april 2009



WAGENINGEN UNIVERSITEIT

WAGENINGEN **UR**

ISBN 978-90-8585-275-9

• • •

2

PROF. DR. R.A. WOUTERSEN

Translationele Toxicologie: de mens als proefdier?

Translationele Toxicologie: de mens als proefdier?

Mijnheer de Rector Magnificus, bestuur en vertegenwoordigers van de Stichting LIFT, waarde collega's, vakgenoten, beste familieleden, vrienden en kennissen, geachte aanwezigen,

Inleiding

Het onderzoeksthema van de leerstoel Translationele Toxicologie maakt deel uit van het Kenniscentrum Innovatieve Toxicologie, een samenwerking tussen TNO en de Wageningen Universiteit op het gebied van de toxicologie, dat in oktober 2008 officieel van start is gegaan na ondertekening van de samenwerkingsovereenkomst door u Meneer de Rector namens de WUR en door mevr. Dr. T. Colijn namens de Raad van Bestuur van TNO.

Dit kenniscentrum is een voortzetting van het voormalige Centre for Food Toxicology, dat in 1999 is gestart en tot nu toe 10 promovendi heeft afgeleverd. TNO geeft daarmee uitdrukking aan een voor haar belangrijk onderzoeksveld op het gebied van de toxicologie.

Het Kenniscentrum Innovatieve Toxicologie vormt een uitstekende voedingsbodem voor het domein van de Translationele Toxicologie. Het is voor mij dan ook een groot genoegen om mijn aanstelling als hoogleraar hier in Wageningen te bekrachtigen met deze oratie.

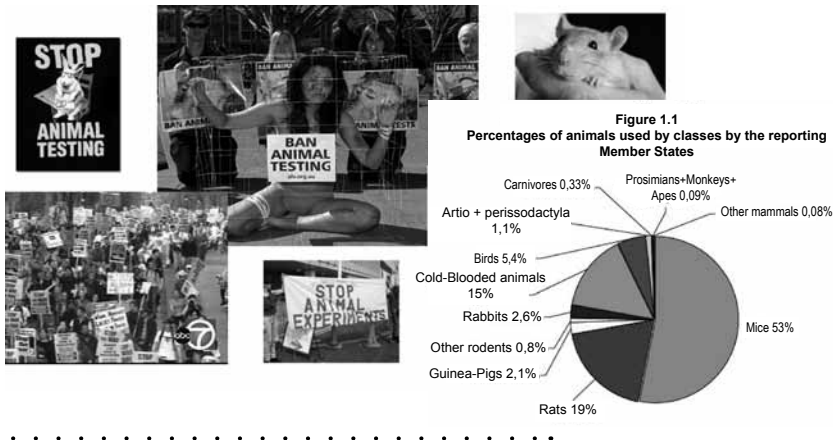
Ik heb deel uit mogen maken van de Gezondheidsraadcommissie "Afleiding Gezondheidskundige Advieswaarden", in de wandelgangen beter bekend als de commissie Notten. De opdracht van deze commissie was om het rapport "Uitgangspunten voor normstelling" dat in 1985 werd opgesteld door de commissie van Genderen "te updaten" (Gezondheidsraad, 1985). De commissie Notten heeft in een reeks van adviezen aandacht geschonken aan wetenschappelijke ontwikke-

. . .

lingen die betekenis hebben voor de afleiding van gezondheidskundige advieswaarden in relatie tot blootstelling aan chemische stoffen. Het doel daarbij was om te komen tot meer gerichte en doelmatige beoordelingsprocedures, inclusief het verminderen van het gebruik van proefdieren (Gezondheidsraad, 2001).

Dat onderwerp staat ook centraal in mijn oratie van vanmiddag met de vraag: Translatie Toxicologie: de mens als proefdier?

Tegen het huidige proefdieronderzoek worden steeds vaker de volgende bezwaren ingebracht:



- i) de maatschappij dringt om ethische redenen aan op vermindering van het gebruik van proefdieren, hoewel er ook demonstranten zijn die aangeven nog in leven te zijn **dankzij** dierproeven;
- ii) beleidsmakers en overheidsinstanties geven steeds vaker te kennen dat de beoordelings-procedures voor nieuwe producten te traag verlopen terwijl er bovendien van een groot aantal verbindingen nog nauwelijks toxiciteitsgegevens voor handen zijn hetgeen ondermeer te maken heeft met het tijdrovende karakter van protocollaire dierproeven en wat kan leiden tot verschil in interpretatie omtrent het mogelijke gevaar van een stof;

- iii) er is met het uitvoerig protocollair toxicologisch onderzoek heel veel geld gemoeid, waardoor de roep om snellere en goedkopere beoordelingsprocedures steeds luider wordt;
- iv) de voorspelbaarheid van de dierproef voor de mens is niet goed genoeg.

Kortom, dames en heren, het zijn uitdagende tijden voor toxicologen. Na een aantal magere jaren, waarin de belangstelling voor de toxicologie leek af te nemen, zit de toxicologie de laatste jaren weer in de lift. En dat is niet zo vreemd. We staan voor een enorme uitdaging. Een uitdaging die is geïnitieerd door nieuwe Europese wetgeving op het gebied van de veiligheid van chemische stoffen en cosmetica. Ik doel hierbij op het regelgevende kader REACH (Registration, Evaluation, Authorization and restriction of Chemicals) (Regulation EC, 2006) dat per 1 juni 2007 in werking is getreden in Europa en het 7^e Amendement op de Cosmeticaverordening (Amendment 7th, 2003).

In het kader van laatstgenoemde richtlijn geldt er in Europa sinds 11 maart 2009 een verbod op het uitvoeren van dierproeven ten behoeve van de beoordeling van de veiligheid van ingrediënten die gebruikt worden voor cosmetica. Voor het vaststellen van complexere (systemische) effecten zoals chronische toxiciteit, reproductie toxiciteit en sensibilisatie (overgevoeligheid) mag vanaf 2013 geen enkele dierproef meer worden uitgevoerd.

Een van de belangrijkste doelstellingen van REACH is om in relatief korte tijd (zo'n 11 jaar) de potentiële risico's van zo'n 30.000 stoffen met een jaarlijkse productie boven de 1000 ton vast te stellen. Dat is een onmogelijke opgave als we daarvoor de benadering zouden kiezen die we in de afgelopen 14 jaar hebben gekozen om de toxiciteit van een kleine 140 zgn. High Production Volume Chemicals (HPVC's) vast te stellen, want dan hebben we alleen al voor de overige HPVC's nog eens 250 jaar nodig om de toxiciteit vast te stellen (Schaafsma et al., 2009). En dan hebben we het nog niet over de chemicaliën waarvan jaarlijks minder wordt geproduceerd dan 1000 ton.

De schattingen over het aantal proefdieren dat voor REACH nodig is, lopen uiteen van 4 miljoen tot het 10-voudige daarvan.

Dat wordt veroorzaakt door het feit dat er voor het vaststellen van effecten op complexe eindpunten zoals bijvoorbeeld de reproductie toxiciteit veel proefdieren nodig zijn en er nog geen alternatieve methoden beschikbaar zijn, dan wel dat de voorgestelde alternatieve methoden nog niet zijn gevalideerd en geaccepteerd door de regelgevende autoriteiten (van de Jagt et al., 2004).

Men kan zich de vraag stellen of het mogelijk is de veiligheid van mensen die op een of andere manier aan een chemisch stof, nieuw voedingsingrediënt of een nieuw geneesmiddel worden blootgesteld te garanderen zonder dat dit product in dierproeven op veiligheid is onderzocht. Vooralsnog moet deze vraag met nee worden beantwoord, maar het kan wel efficiënter en met minder gebruik van proefdieren.

De huidige beoordelingssystematiek

De toxicologische risicobeoordeling van nieuwe stoffen zoals industriële chemicaliën, ingrediënten van nieuwe voedingsmiddelen, voedseladditieven, pesticiden en geneesmiddelen, wordt uitgevoerd conform internationale (OECD, EU, FDA, EPA etc.) richtlijnen en omvat de volgende stappen:

- i) vaststellen van de toxische eigenschappen; bepalen van de “hazard”;
- ii) vaststellen van het verband tussen blootstelling en schadelijk effect; “hazard characterisation”;
- iii) bepaling van de blootstelling; de “exposure assessment”;
- iv) karakterisering van het gezondheidsrisico; de “risk assessment”.



A high hazard....

De hazard, het gevaar van een nieuwe stof wordt over het algemeen bepaald op basis van resultaten van onderzoek met proef-dieren, omdat gegevens uit epidemiologisch onderzoek meestal ontbreken.

...can be a low risk!

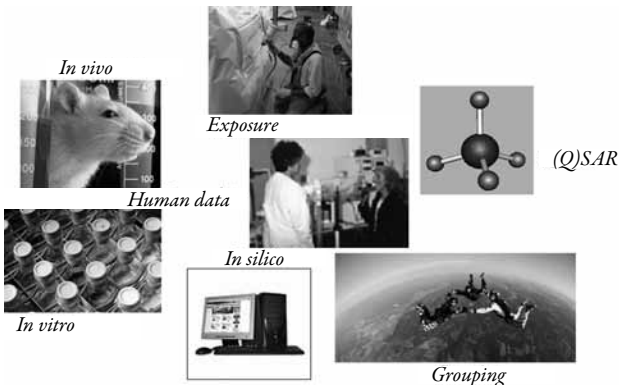


Ik beperk mij in deze oratie tot het vaststellen van de “hazard”. Collega van Leeuwen zal zich concentreren op de vraag of resultaten verkregen met innovatieve test strategieën geschikt zijn om een betrouwbare toxicologische risico evaluatie uit te kunnen voeren.

.....

In het rapport van de Gezondheidsraad “Onderzoek gezondheidsrisico’s stoffen: een gerichtere benadering” (Gezondheidsraad 2001) wordt het voorstel gedaan om bij onderzoek naar de mate van toxiciteit van een nieuwe verbinding te beginnen met toepassing van:

.....



-
- i) Structuur Activiteits Relaties (SAR's), waarmee chemische stoffen ingedeeld kunnen worden in groepen met een te verwachten vergelijkbaar werkingsmechanisme wat met behulp van;
 - ii) *in silico* (computermodellen) en;
 - iii) *in vitro* onderzoek met cellen afkomstig van dieren en mensen nader onderzocht kan worden;
- alvorens met het
- iv) *in vivo* onderzoek te starten.

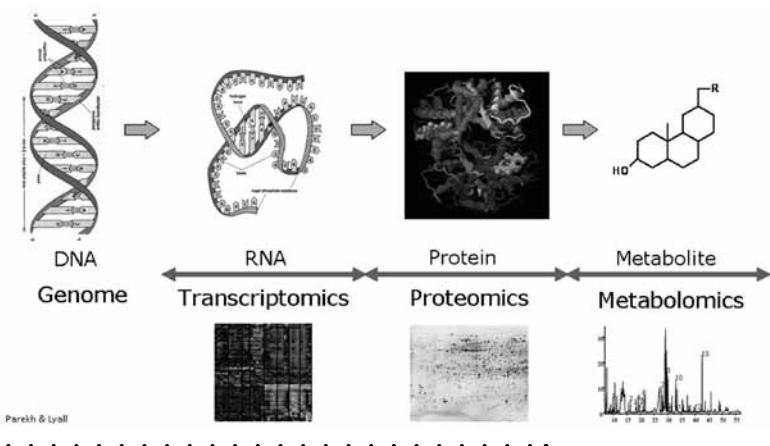
Daarnaast wordt meer aandacht gevraagd voor informatie omtrent het blootstellingsprofiel van een stof en in het verlengde daarvan voor toepassing van het Threshold of Toxicological Concern, kortweg het TTC principe genoemd, waarbij men uitgaat van het idee dat hele lage blootstellingsniveaus vanuit toxicologisch oogpunt niet relevant zijn en dus geen gevaar opleveren (Kroes et al., 2000). Als de blootstelling onder de Threshold of Toxicological Concern ligt, is veiligheidsonderzoek niet noodzakelijk, dan wel heeft het een lage prioriteit. Het TTC principe wordt echter nog lang niet door alle regelgevende instanties geaccepteerd.

In een recent rapport van de National Research Council van de V.S. wordt geconcludeerd dat de ontwikkelingen op het gebied van *in silico* en *in vitro* onderzoek ertoe zullen leiden dat het huidige toxicologische onderzoek, dat met name gebaseerd is op onderzoek met proefdieren, in de toekomst voor een belangrijk deel vervangen zal kunnen worden door *in vitro* onderzoek, waarbij veranderingen in biologische processen worden bestudeerd met behulp van geïsoleerde organen, weefselplakjes, cellen, cellijnen of celcomponenten bij voorkeur van humane oorsprong (NRC, 2007; Andersen et al., 2008).

Ik beschouw deze benadering als translationeel toxicologisch onderzoek. Daarbij kunnen inzichten uit het fundamentele/innovatieve onderzoek, verkregen met bij voorkeur humaan materiaal, direct vertaald worden naar de humane situatie (Gezondheidsonderzoek, 2007).

Gebruik van humaan materiaal heeft als groot voordeel dat de extrapolatie van proefdier naar mens overbodig is (Cohen en De Cock Buning, 1996). Daartegenover staat echter de grote variabiliteit tussen menselijke materiaal wat weer als een nadeel kan worden gezien (Groothuis en van der Valk, 2006).

Terwijl het bij proefdieren mogelijk is om naast analyses van lichaamsvloeistoffen ook onderzoek te doen aan weefsels is dat bij onderzoek bij vrijwilligers zelden het geval. Plasma en urinemonsters kunnen echter uitstekend gebruikt worden om nieuwe technologieën zoals transcriptomics, proteomics en metabolomics toe te passen.



Transcriptomics heeft tot doel om genexpressieprofielen met elkaar te vergelijken en op die manier te bepalen welke genen bij bepaalde pathofysiologische processen worden geactiveerd of juist gedeactiveerd.

Vergelijking van het transcriptomics of metabolomics profiel bij het proefdier of in cellen *in vitro* met dat bij de mens kan een antwoord geven op de vraag of de effecten die bij een proefdier worden gezien representatief zijn voor de waarnemingen bij de mens.

De -omics technologieën kunnen in het regulatoire onderzoek een belangrijke rol spelen en bijdragen aan een grotere flexibiliteit bij het vaststellen van te volgen test strategieën. In combinatie met *in vitro* onderzoek is het mogelijk om vast te stellen wat het meest optimale diermodel is. Een dergelijke benadering leidt niet tot volledige vervanging, maar wel tot een aanzienlijke reductie van het proefdiergebruik. Ik zal dat later illustreren met enkele voorbeelden.

Het -omics onderzoek levert enorm veel gegevens op en kan niet zonder informatietechnologie, bio-informatica, systeem biologie en het opslaan en uitwisselen van gegevens in databanken die voor iedereen toegankelijk zijn om inzicht te krijgen in de biologische “pathways” die door de teststof worden verstoord.

.....



Momenteel is er nog een grote variatie in de data tussen de verschillende laboratoria die deze relatief nieuwe technologieën toepassen. Harmonisatie is absoluut noodzakelijk om deze veelbelovende technologieën een kans van slagen te geven.

In het vervolg van mijn presentatie zal ik een aantal voorbeelden de revue laten passeren van translationeel/innovatief toxicologisch onderzoek dat in de toekomst bij kan dragen aan het verminderen of zelfs vervanging van het aantal proefdieren dat nodig is om effecten op complexe toxicologische eindpunten zoals:

- **Carcinogeniteit,**
- **Reproductie toxiciteit en**
- **Sensibilisatie**

vast te stellen. Dit onderzoek wordt uitgevoerd door promovendi die werkzaam zijn in het Kenniscentrum Innovatieve Toxicologie, in samenwerking met medewerkers van TNO en de WUR.

.....

Bij het onderzoek naar alternatieven voor deze complexe toxicologische eindpunten wordt gebruik gemaakt van eerder genoemde nieuwe technologieën zoals transcriptomics, proteomics en metabolomics.

Men heeft het hele menselijke genoom in kaart gebracht en op internet zijn al advertenties te vinden die aanbieden om voor 1000 dollar je genoom te analyseren.



Genomic Information

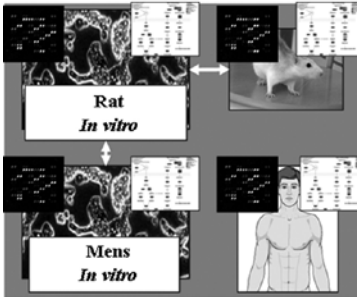


In mijn optiek een ongewenste ontwikkeling maar de kennis van het genoom van mens, rat en muis levert, in combinatie met transcriptomics, proteomics en metabolomics levert ongekende mogelijkheden om het proefdiergebruik aanzienlijk te verminderen.

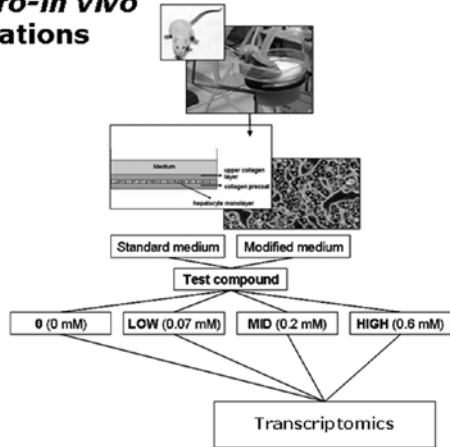
- **Carcinogenese/mutagenese**

Op het gebied van de carcinogenese participeren TNO en de WUR in het NTC, het Netherlands Toxicogenomics Centre en het ASAT programma, “Assuring Safety without Animal Testing”.

Transcriptomics for *in vitro-in vivo* and interspecies extrapolations



Kienhuis et al., 2008

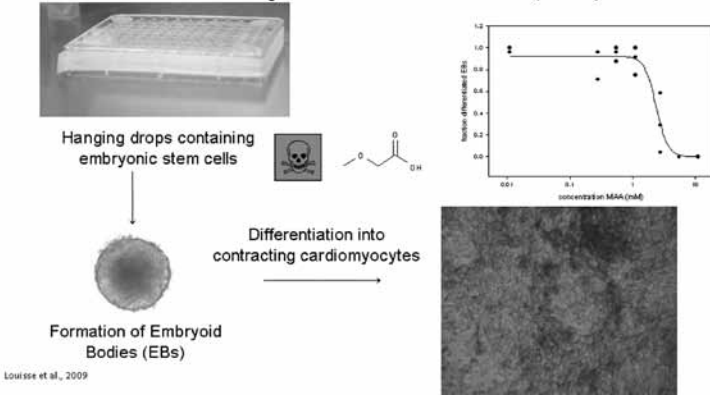


In dit onderzoek wordt gebruik gemaakt van levercellen van ratten en mensen die *in vitro* worden blootgesteld aan een mogelijk kankerverwekkende stof. Door gebruik te maken van transcriptomics kan vastgesteld worden welke overeenkomstige genen in de lever bij de rat *in vivo* en *in vitro* en bij de mens *in vitro* worden beïnvloed. Met behulp van systeem biologie kan vervolgens inzicht verkregen worden in de biologische processen (de pathways) die door de teststof worden ontregeld. Vergelijking van de resultaten met die van bekende kankerverwekkende stoffen kunnen een indicatie geven of de teststof carcinogene potentie heeft.

- **Reproductie toxiciteit**

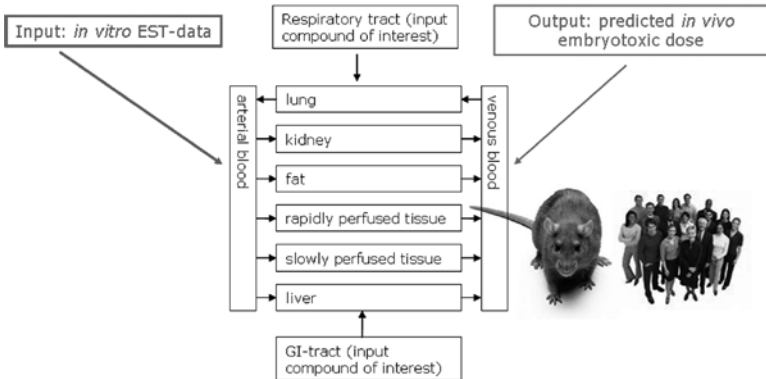
Het doel van het ZonMw project van Jochem Louisse, dat door TNO en de WUR wordt uitgevoerd in samenwerking met collega Piersma van het Rijks Instituut voor de Volksgezondheid in Bilthoven en collega Blaauboer van het Institute for Risk Assessment Sciences in Utrecht, is om met behulp van een combinatie van *in vitro* en *in silico* (computer) modellen systemische toxiciteit van stoffen te voorspellen voor de mens na herhaalde blootstelling.

Embryonic Stem cell Test (EST)



In dit project wordt gebruik gemaakt van embryonale stamcellen afkomstig van muizen die zich ontwikkelen tot kloppende hartcellen. Er is voor het ontwikkelen van deze nieuwe benadering gekozen voor een serie modelstoffen (alkoxy azijnzuren) waarvan veel bekend is over de systemische toxiciteit en kinetiek *in vivo*.

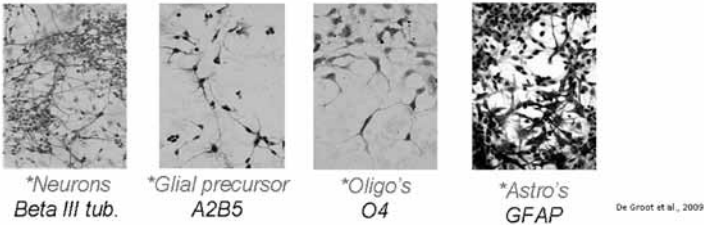
Physiologically Based Biokinetic Model



In het *in vitro* model wordt de zogenaamde EC50 bepaald. Dat is de concentratie waarbij 50% van de hartcellen niet meer kloppen. Integratie van deze *in vitro* toxiciteitsgegevens in het kinetische computermodel maakt het mogelijk te voorspellen welke *in vivo* dosis bij het proefdier embryotoxische effecten zou geven zonder dat daarvoor de dierproef hoeft te worden uitgevoerd (Verwei et al., 2006).

.....

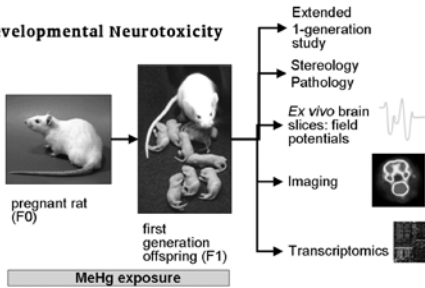
Developmental Neurotoxicity In Vitro



In een ander ZonMw project is het gelukt om deze stamcellen te laten ontwikkelen tot de 4 belangrijkste cellen die in de hersenen voorkomen: de neuronen en de diverse steuncellen zoals de astrocyten en de oligodendrocyten. Dat maakt het mogelijk om effecten van potentieel neurotoxische stoffen *in vitro* te onderzoeken.

.....

Developmental Neurotoxicity



Op het gebied van de reproductie toxicologie werken we nauw samen met de collega's van Loveren en Piersma van het Rijks Instituut voor Volksgezondheid en Milieu in een door het Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport financieel ondersteund project dat bekend staat als de extended 1-generation studie.

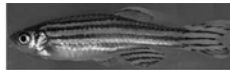
Daarbij wordt onderzocht of het mogelijk is een 2-generatie studie te vervangen door een 1-generatie studie die wordt uitgebreid met extra parameters op het gebied van de neurotoxicologie en de immunotoxicologie.

Binnen dat project wordt onderzocht wat de toepassingsmogelijkheden zijn van onder andere *in vivo* functional imaging (PET-FGD) en transcriptomics om de effecten van stoffen op de ontwikkeling van de hersenen te bestuderen, gebruik makend van een gering aantal proefdieren.

Tenslotte zijn we vorig jaar gestart met onderzoek naar de mogelijkheid om de zebravis te introduceren als een alternatief voor toxiciteitsstudies met hogere proefdiersoorten als de rat en de muis.

.....

Zebravis als alternatieve test



- Algemene toxiciteit
- Specifieke toxiciteit
Extended one-generation study: developmental neurotoxicity
- Genetische toxiciteit
- Pathologie
- Gedrag



.....

Celine de Esch is als promovenda aangesteld op dit project, dat tot doel heeft gedragstesten te ontwikkelen om potentieel neurotoxische stoffen op te kunnen sporen en om te onderzoeken of de zebravis gebruikt kan worden als alternatief voor de eerder genoemde extended 1-generation studie in de rat.

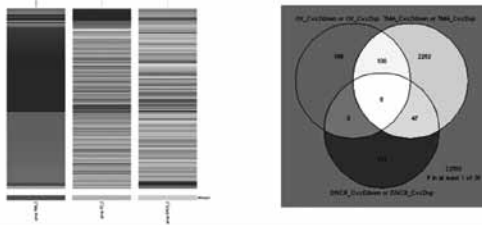
- **Sensibilisatie**

De transcriptomics technologie wordt eveneens toegepast bij het ophelderen van de factoren die een rol spelen bij het ontstaan van respiratoire allergie ten gevolge van blootstelling aan allergenen.

Respiratory Allergy

How to prevent workers/general public to acquire respiratory allergic diseases?

- No validated tests to screen compounds



Kuper et al., 2008

Respiratory allergy model with different allergens:
changes on gene level

In dit voorbeeld zijn een drietal allergenen onderzocht met behulp van transcriptomics om meer inzicht te krijgen in de genen en de biologische processen die bij het ontwikkelen van een respiratoire allergie zijn betrokken, want dat is nog allerminst duidelijk. (in dit voorbeeld blijken 6 genen betrokken bij de effecten van alle drie de allergenen).

De mogelijkheden van *in vitro* onderzoek met trachearingetjes, een techniek die jaren geleden werd geïntroduceerd bij TNO door Fons Rutten en André Wolterbeek, willen wij gaan gebruiken voor het bestuderen van de factoren die een rol spelen bij het ontstaan van sensibilisatie van de luchtwegen.

Trachea *In Vitro*

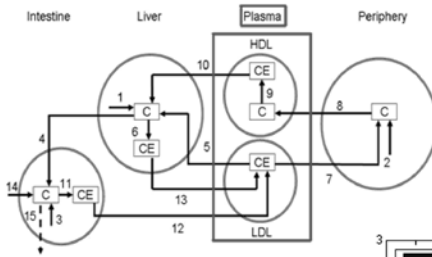


Wolterbeek et al., 1996

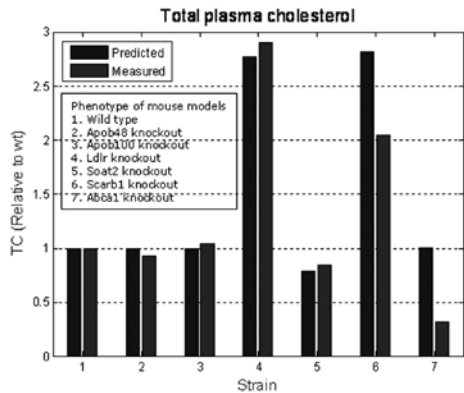
Als laatste voorbeeld het promotie-onderzoek van Niek van de Pas.

Hij heeft met behulp van literatuurgegevens een computermodel gemaakt van het metabolisme van cholesterol in het lichaam met de nadruk op de processen die bepalend zijn voor de cholesterolconcentraties in het plasma. Het model blijkt de plasma cholesterol concentraties zoals die bij verschillende (knockout) muizen gevonden worden goed te voorspellen wat blijkt uit de resultaten rechts op deze dia.

**Physiologically Based Biokinetic Model:
plasma cholesterol modeling
in vivo prediction from *in vitro* tests**



Van de Pas et al., 2009



Na translatie van dit muizenmodel naar de humane situatie willen we met dit computermodel voorspellen wat de effecten zijn van diverse cholesterolverlagers zoals statines en fytoosterolen op de cholesterolconcentraties in het plasma.

Het uiteindelijke doel van het gepresenteerde onderzoek is om de nieuwe methoden te valideren en vervolgens geaccepteerd te krijgen door de regelgevende instanties. Dit vereist de medewerking en het meedenken van die regelgevende instanties, omdat dit een “change in mind set” vraagt (Schaafsma et al., 2009).

Er moet een serieuze discussie komen hoe gevalideerde innovatieve methoden sneller als internationaal geaccepteerde richtlijn geïmplementeerd kunnen worden. Dat kan alleen bereikt worden als de regelgevers veel meer dan nu het geval is bij de validatie van alternatieve toxiciteitstesten betrokken worden.

In het kader van het 7th Amendment heeft men een schatting gemaakt van de tijd die nodig zal zijn om voor de diverse toxicologische eindpunten alternatieven te ontwikkelen; te valideren, en te implementeren in internationaal geaccepteerde richtlijnen.

.....
Full replacement of animal testing (SCCNFP, 2004)

Human health effects	Foreseeable time involved for full replacement
Acute toxicity	>2014
Skin irritation	>2014
Skin corrosion	<2004
Eye irritation	>2010
Skin sensitisation	>2019
Skin absorption/penetration	>2006
Subacute/subchronic toxicity	>>2014 (not foreseeable)
Genotoxicity/mutagenicity	>2016
UV-induced effects	>>2019 (not foreseeable)
Toxicokinetics and biotransformation	>>2014 (not foreseeable)
Carcinogenicity	>>2014 (not foreseeable)
Reproductive toxicity	>>2014 (not foreseeable)

.....

Ik denk dat veel van de in deze tabel genoemde jaartallen niet haalbaar zijn omdat de ervaringen van ECVAM (European Centre for Validation of Alternative Methods) en ICCVAM (de Amerikaanse Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods) hebben geleerd dat acceptatie door de

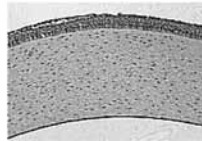
regelgevende instanties een moeizaam proces is, dat minimaal 10-20 jaar in beslag neemt. Dat duurt te lang.

Ik zal dat toelichten aan de hand van het voorbeeld van de ontwikkeling, validatie en acceptatie van de “Isolated Chicken Eye” test als alternatief voor de oogirritatietest met konijnen.

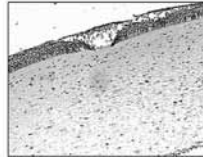
Ruim 20 jaar geleden zijn Herman Koëter en Menk Prinsen bij TNO begonnen met de introductie van de oogirritatietest met geïsoleerde kippenogen als alternatief voor de zogenaamde Draize eye irritation test met levende konijnen.

.....

Isolated Chicken Eye (ICE) test



Histopathologie van de cornea: ernst van de schade



.....

Deze maand is de test pas geaccepteerd als een officiële OECD testrichtlijn, tenminste als er sprake is van ernstige irritatie of corrosie. Maar als de kippenoogtest geen effecten laat zien (ongeveer 70% van de stoffen) of duidt op geringe irritatie (20% van de stoffen) zal nog steeds een konijn gebruikt moeten worden om uitsluitel te geven. Echter, de Cosmetics richtlijn verbiedt het doen van dierproeven. TNO is door ECVAM gevraagd de validatie van een *in vitro* test te coördineren waarbij gebruik gemaakt wordt van humaan weefsel. Daarmee hoopt

men gering irriterende stoffen te kunnen onderscheiden van niet-irriterende stoffen. Eind van dit jaar moeten de resultaten bekend zijn.

Ik denk dat dit voorbeeld aantoont dat, als het al meer dan 20 jaar duurt om een alternatief voor het vaststellen van een relatief eenvoudig lokaal toxisch effect als oogirritatie door de regelgevende instanties geaccepteerd te krijgen, er een enorme “change in mind set” nodig is bij de onderzoekers, de industrie, de maatschappij en vooral ook bij de regelgevende instanties om de in de tabel genoemde streefdata ook maar bij benadering te kunnen realiseren.

De “change in mind set” houdt in dat we ons moeten concentreren op het verminderen van de overall onzekerheid in plaats van de onzekerheid over slechts een paar stoffen weg te nemen. Dat betekent dat we een zekere mate van onzekerheid zullen moeten accepteren, maar dat is niet nieuw. Ook van de 140 stoffen die zeer diepgaand zijn onderzocht is niet zeker of ze toch niet onder bepaalde omstandigheden toxisch zijn.

.....

**THE NEVER-ENDING
DREAM: ZERO RISK**



.....

Honderd procent zekerheid bestaat niet in het leven en dus ook niet in de toxicologie.



Ik denk dat u het met mij eens zult zijn dat het onderzoek met proefdieren in de toekomst voor een belangrijk deel vervangen zal kunnen worden door *in vitro* en *in silico* onderzoek, waarbij veranderingen in biologische processen worden bestudeerd in geïsoleerde organen, weefselplakjes, cellen, cellijnen of celcomponenten bij voorkeur van humane oorsprong. Kortom, Translatie-
neel Onderzoek in *optima forma* met de mens als proefdier.

.....

Dankwoord

Rest een woord van dank aan de vele mensen zonder wiens steun ik hier niet zou hebben gestaan.

Meneer de Rector, geachte leden van bestuur van het Lorenz - van Iterson Fonds TNO, en de leden van de benoemingscommissie, ik dank u voor het in mij gestelde vertrouwen, dat tot mijn benoeming heeft geleid.

Geachte Leden van de Raad van Bestuur van TNO en de directie van het Kerngebied Kwaliteit van Leven, ik ben u buitengewoon dankbaar voor het feit dat u de relatie tussen TNO en de Wageningen Universiteit al jaren koestert en dat u mij de gelegenheid heeft gegeven om het werk van mijn voorganger, Professor John Groten, voort te zetten.

Collega's van de Business Unit Quality and Safety van TNO, het blijft zelfs na 30 jaar nog steeds een groot genoegen om in Zeist te werken en opdrachtgevers keer op

keer te verbazen met alle kennis en mogelijkheden die wij in huis hebben. Het is mijn vaste overtuiging dat wij daar nog veel te weinig mee naar buiten treden. Ik vertrouw erop dat het onderzoek dat de komende jaren uitgevoerd zal worden binnen het kenniscentrum een belangrijke bijdrage zal leveren aan het in de vaart houden van het “flagship de 3V’s” dat binnen het kerngebied Kwaliteit van Leven is opgestart.

Een speciaal woord van dank aan mijn secretaresse, Karin Hoefs, die de powerpoint presentatie voor mij in elkaar heeft gezet en voor Martin Bos, die de operationele taken als hoofd van de afdeling Toxicology and Applied Pharmacology van mij heeft overgenomen, zodat ik mij voor het grootste deel van de tijd met de inhoudelijke aspecten van de toxicologie kan bezighouden.

Wageningse collega’s, AIO’s en studenten in de leerstoelgroep Toxicologie en het departement Agrotechnologie en Voedingwetenschappen. Ik zie uit naar een constructieve samenwerking.

Bij het maken van de lijst van genodigden die ik voor deze dag wilde uitnodigen beseft ik pas met hoeveel personen ik, naast de collega’s van TNO en de WUR, de afgelopen jaren heb samengewerkt. Dan heb ik het over de leden van diverse commissies van de Gezondheidsraad, de commissie Veiligheidsbeoordeling Nieuwe Voedingsmiddelen, de Scientific Committee for Occupational Exposure Limits in Luxemburg en de werkgroep en het panel Food Additives and Nutrient Sources van de European Food Safety Authority (EFSA) in Parma.

Ik ervaar de vergaderingen van deze commissies als een slijpsteen voor de geest.

Verder een woord van dank voor de volgende personen:

In de eerste plaats wil ik Ivonne Rietjens bedanken voor het initiatief om mij bij de WUR en het LIFT fonds voor te dragen voor de positie van Buitengewoon Hoogleraar.

Ivonne, ik geniet enorm van onze samenwerking. Niet alleen bij de vakgroep Toxicologie van de WUR, maar zeker ook bij onze gezamenlijke vergaderingen bij

. . .

de EFSA in Parma. Dat is niet alleen hard werken, maar er is 's avonds altijd tijd om te "poekelen" in een restaurant onder het genot van één door Paul Tobback aanbevolen wijn.

Ik zie uit naar de komende 10 jaar dat ik nog met jou hoop samen te kunnen werken. Ik vertrouw erop dat we middels het onderzoek uitgevoerd in het Kenniscentrum Innovatieve Toxicologie een belangrijke bijdrage zullen leveren aan de "change in mind set".

Een woord van dank ook voor degenen die ik beschouw als mijn leermeesters:

Hooggeleerde heer van Genderen, U heeft mij de belangstelling voor de toxicologie bijgebracht en het Gezondheidsraad rapport van uw commissie is feitelijk de aanleiding voor mijn leerstoel Translationele Toxicologie.

Hooggeleerde heer Feron, beste Vic, jij bent voor mij altijd een voorbeeld geweest. Jij hebt mij aangenomen bij TNO en samen met Dolf Beems geïntroduceerd in het onvoorstelbaar brede en interessante werkkterrein van de Toxicologische Pathologie. Ik hoop met deze presentatie duidelijk gemaakt te hebben dat voor het optimaal toepassen van de translationele toxicologie een gedegen kennis van de pathologie vereist is.

Familie en vrienden buiten het werk, het is goed om met jullie ook eens met andere zaken bezig te zijn dan toxicologie. Fractiegenoten van D66 De Bilt, mederaadsleden, leden van de Griffie en College van Burgemeester en Wethouders, met genoegen neem ik deel aan de fractie-, de commissie-, en de raadsvergaderingen en de andere activiteiten die in het belang van de inwoners van De Bilt maandelijks worden georganiseerd. Niks translationele of innovatieve toxicologie, maar nieuwbouwplannen, de ondertunneling van het spoor, het opruimen van een bunker. Allemaal onderwerpen waar de burgers direct bij betrokken zijn. Meer toegepast kan het niet zijn. Ik hoop daar, ook na de komende raadsverkiezingen, nog 4 jaar aan deel te mogen nemen.

. . .

Tot slot, mijn familie. Een extra woord van dank voor mijn moeder. Jammer dat Pa dit niet meer mee heeft mogen maken. Jullie hebben mij altijd gesteund en daar ben ik zeer dankbaar voor. Ma, het is fantastisch dat je nog zo gezond bent en deze dag aanwezig kunt zijn. Ik hoop dat je nog lang trots op mij mag zijn.

Jasper, ik hoop dat ik je heb kunnen overtuigen dat de toxicologie en pathologie minstens zo boeiend zijn als diergeneeskunde. Het is echt meer dan alleen maar een beetje door een microscoop zitten turen de hele dag. Ik hoop dat je over een paar jaar net zoveel plezier hebt in je werk als dierenarts, als ik als toxicoloog/toxicologisch patholoog.

Felice, je begrijpt weliswaar niet hoe het mogelijk is dat ik met plezier naar een raadsvergadering ga, na een week vergaderen bij de EFSA, de SCOEL of de Gezondheidsraad, maar ik waardeer het zeer dat je mij de vrijheid geeft om met mijn werk en raadsactiviteiten bezig te zijn. Zonder jouw steun zou ik hier niet staan. Ik hoop dan ook van harte dat we nog lang samen mogen genieten van ons werk en onze hobby's. We hebben nooit gebrek aan gespreksstof; er is altijd wel iets waar we elkaars mening over willen weten.

Hiermee ben ik aan het eind van mijn oratie, waarin ik u heb laten zien dat er veel innovatieve, proefdier vrije methoden ontwikkeld worden om "de hazard", het gevaar van een stof vast te stellen. Collega van Leeuwen zal in zijn oratie ingaan op de vraag in hoeverre de resultaten van het innovatieve toxicologische onderzoek gebruikt kunnen worden om een betrouwbare risico evaluatie uit te voeren.

Ik heb gezegd.

Literatuur

- Amendment 7th on the Cosmetic Directive (2003)/15/EC.
- Andersen, M.E. and D. Krewski. Toxicity Testing in de 21st Century: Bringing the Vision to Life. *Toxicological Sciences* 107(2009)324-330.
- Cohen, N.E. en T. De Cock Buning. Humaan materiaal in onderzoek. Voorstel tot een alternatief voor dierproeven. In: *Proefdier en Wetenschap* 9 (1996) uitgave van de afdeling Dierproefvraagstukken, Leiden.
- Esch, C. de, D.M.G. de Groot, A.P.M. Wolterbeek, I.M.C.M. Rietjens and R.A. Woutersen. The zebrafish as an alternative model for (developmental) toxicity testing. In preparation.
- Gezondheidsraad: Commissie uitgangspunten voor normstelling. Uitgangspunten voor normstelling. De inzichtelijke opbouw van advieswaarden voor niet-mutagene, niet-carcinogene en niet-immunotoxische stoffen. Den Haag. Gezondheidsraad (1985) Publikatiennr. 1985/31.
- Gezondheidsraad: Commissie afleiding gezondheidskundige advieswaarden. Toxicologische advieswaarden voor blootstelling aan stoffen. Den Haag. Gezondheidsraad (1996) Publikatiennr. 1996/12.
- Gezondheidsraad: Onderzoek gezondheidsrisico's stoffen: een gerichtere benadering. Den Haag. Gezondheidsraad (2001) Publicatiennr. 2001/24.
- Groothuis, G. en J. van der Valk. Onderzoek met menselijk weefsel: een humaan alternatief? In: *Kan het ook anders – Beschouwingen over alternatieven voor dierproeven*. Jac. Swart, Geny Groothuis, Jean Horbach en Jan van der Valk (Red.). Uitgeverij DAMON Budel (2006) pp 80-90.
- Kienhuis, A.S., M.C.G. van de Poll, H. Wortelboer, M. van Herwijnen, R. Gottschalk, C.H.C. de Jong, A. Boorsma, R.S. Paulus, J.C.S. Kleinjans, R.H. Stierum and J.H.M. van Delft. Parallelogram Approach Using Rat-Human *In Vitro* and Rat *In Vivo* Toxicogenomics Predicts Acetaminophen-induced Hepatotoxicity in Humans. *Toxicol. Sci.* 107(2008)544-552.
- Kroes, R., C. Galli, I. Munro, B. Schilter, L.-A. Tran, R. Walker and G. Wurtzen. Threshold of toxicological concern for chemical substances present in the diet: a practical tool for assessing the need for toxicity testing. *Fd Chem. Toxicol.* 38(2000)255-312.

- Kuper, C.F., W.H.M. Heijne, M. Dansen, K.C.M. Verhoeckx, A. Boorsma, M. Radonjic, J. Buijntjes, R.H. Stierum, H. Muijser, J.H.E. Arts. Molecular characterization of trimellitic anhydride-induced respiratory allergy in Brown Norway rats. *Toxicol. Pathol.* 36(2008)985-999.
- Louisse, J., B.J. Blaauboer, M.J.A. Verwei, and I.M.C.M. Rietjens. Implementation and validation of integrated *in vitro* – *in silico* models for predicting human repeated dose toxicity; facilitating non-animal based safety assessment of chemicals. ZonMw project 2007.
- National Research Council. Committee on Toxicity and Assessment of Environmental Agents. *Toxicity Testing in the Twenty-first Century: A Vision and a Strategy* (2007). National Academic Press: <http://www.nap.edu/catalog/11970.html>.
- Pas, Niek C.A. van de, A.E.M.F. Soffers, A.P. Freidig, B. van Ommen, R.A. Woutersen, I.M.C.M. Rietjens and A.A. de Graaf. Systematic construction of a conceptual model of cholesterol metabolism based on knockout Mouse phenotypes. *J. Lipid Res.* (2009) Submitted.
- Raad voor Gezondheidsonderzoek. Translationeel onderzoek in Nederland - Van kennis naar kliniek (2007). Advisory Council on Health research (RGO) (2007) Publicatienr. 55.
- Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and the Council. (18 december 2006), Concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of Chemicals.
- Schaafsma, G., E.D. Kroese, E.L.J.P. Tielemans, J.J.M. Van de Sandt and C.J. van Leeuwen. REACH, non-testing approaches and the urgent need for a change in mind set. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 53 (2009) 70-80.
- Van der Jagt, K., S. Munn, J. Tórslóv and J. de Bruijn. Alternative approaches can reduce the use of test animals under REACH, Addendum to the report “Assessment of additional testing needs under REACH. Effects of (Q)SARs, risk based testing and voluntary industry initiatives”. JRC Report EUR 21405 EN, 25 pp. Ispra, Italy. European Commission, Joint Research Centre. (2004). <http://ecb.jrc.it>.

Verwei, M. J.A. van Burgsteden, C.A.M. Krul, J.J. van de Sandt and A.P. Freidig.
Prediction of *in vivo* embryotoxic effect levels with a combination of *in vitro*
studies and PBPK modelling. *Toxicol. Lett.* 65(2006)79-87.

Wolterbeek, A.P.M. Effects of vitamin A and β -carotene on respiratory tract
carcinogenesis in hamsters – *in vivo* and *in vitro* studies. Thesis (1995).



Met het oog op het streven van de industrie en de overheid om het gezondheidsrisico van nieuwe producten sneller en efficiënter, met minder gebruik van proefdieren, te voorspellen is een andere benadering van het toxiciteitsonderzoek een vereiste.

Het translationeel toxicologisch onderzoek maakt het mogelijk om een toxicologische risico-evaluatie uit te voeren met minder proefdieren door meer geïntegreerd gebruik te maken van in vivo en in vitro onderzoek, computermodellen en gegevens uit de klinische toxicologie.