

SAMENVATTING IN HET NEDERLANDS

SAMENVATTING IN HET NEDERLANDS

Het toepassen van moleculaire beeldvormende technieken in de moleculaire biologie begon ongeveer 20 jaar geleden en heeft sindsdien geleid tot zowel nieuwe inzichten in verschillende biologische processen, als de ontwikkeling van nieuwe diagnostische methoden en, niet onbelangrijk, nieuwe therapeutica. Beeldvorming met behulp van bioluminescentie, één van de ontwikkelde imaging-technieken, wordt heden ten dage frequent toegepast in preklinische studies, zo ook in het kankeronderzoek. Dit natuurlijk voorkomende fenomeen is gebaseerd op de oxidatieve omzetting van specifieke substraten door verschillende vormen van het enzym luciferase, waarbij fotonen vrijkomen die met gevoelige camera's gevisualiseerd kunnen worden. In dit proefschrift wordt verder ingegaan op Gluc (Gaussia luciferase), hetgeen een luciferase is afkomstig van roeipootkreeftjes (*Gaussia princeps*). Dit enzym heeft meerdere voordelen ten opzichte van andere luciferases. Ten eerste wordt dit kleine luciferase uit de cel geëxporteerd (gesecreteerd), waarna door middel van het toevoegen van het desbetreffende substraat fotonen vrijkomen die met een bioluminescentiecamera gemeten kunnen worden. Hierdoor kan Gluc fungeren als een zeer sensitieve methode om biologische processen in levende cellen te detecteren. Na optimalisatie van de Gluc-bioluminescentiereporter hebben we deze gebruikt voor het bestuderen van verschillende biologische processen en voor de ontwikkeling van nieuwe therapeutica tegen glioblastomen, de meest kwaadaardige vorm van hersentumoren. Onderzoek naar glioblastomen is urgent aangezien succesvolle behandelingen voor patiënten met deze hersentumor nog steeds zeer beperkt zijn, resulterend in een laag overlevingspercentage.

In hoofdstuk 2 wordt een door ons ontwikkelde test besproken die gebruik maakt van de natuurlijke eigenschap van Gluc om uit de cel te worden gesecreteerd, om zo cellulaire eiwitsecretie te bestuderen. Deze gevoelige test kan worden ingezet om cellulaire stress te meten, een veel voorkomend fenomeen bij tumoren, dat kan bijdragen aan de resistentie tegen bestaande tumortherapieën. In hoofdstukken 3 en 4 is van de Gluc-secretie gebruik gemaakt om biologische processen in muizen in beeld te brengen. Door de niveaus van gesecreteerd Gluc te meten in bloed en urine afkomstig van muizen met ingebrachte Gluc-producerende cellen, is het mogelijk tumorgroei en therapierespons te volgen. Bovendien kan de levensvatbaarheid van in muizen getransplanteerde stamcellen worden bepaald. In hoofdstuk 5 wordt beschreven hoe Gluc is ingezet als een reporter om de activiteit van de transcriptiefactor NFκB te meten. Zo konden de gevolgen van activatie en inhibitie van NFκB in zowel gekweekte tumorcellen als in diermodellen worden bestudeerd. Deze reporter kan bovendien worden

gebruikt voor screening op NFkB-remmers, hetgeen vanuit therapeutisch oogpunt zeer gewenst is. De hierboven beschreven methoden werden vervolgens gebruikt om nieuwe therapieën tegen glioblastomen te ontwikkelen. Hoofdstuk 6 behandelt het gebruik van de Gluc-reporter in combinatie met NFkB-activiteit in tumoren om succesvolle tumorselectieve gentherapie toe te passen, leidend tot celdood in zowel glioblastomen als andere tumorcellijnen. In hoofdstuk 7 wordt tenslotte beschreven hoe we Gluc hebben ingezet om op grote schaal de overleving van tumorcellen te bepalen. Hierdoor kunnen duizenden therapeutische kandidaatmiddelen tegelijk geanalyseerd worden op hun capaciteit om kankercellen te doden. Eén van deze geteste middelen, genaamd Lanatoside C, bleek in een muismodel sterk verminderde hersentumorgroei te veroorzaken. Dit lijkt het gevolg te zijn van een combinatie van apoptose en een op necrose gebaseerd mechanisme van celdood.

In dit proefschrift worden nieuwe mogelijkheden beschreven om met bestaande moleculaire beeldvormingstechnieken zowel biologische processen in glioblastomen te onderzoeken als het identificeren van nieuwe therapeutica tegen deze hersentumoren. Het gebruik van *Gaussia* luciferase als bioluminescentiereporter kan op een preklinisch niveau nieuw licht werpen op vele ziektebeelden waaronder kanker, en zo een basis leggen voor toekomstig klinisch onderzoek.