



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Systems Biology based studies on anti-inflammatory compounds**

Verhoeckx, Kitty Catharina Maria

### **Citation**

Verhoeckx, K. C. M. (2005, November 14). *Systems Biology based studies on anti-inflammatory compounds*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3744>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3744>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

---

## Curriculum vitae

Kitty Catharina Maria Verhoeckx werd geboren op 14 augustus 1970 te Utrecht. Na het behalen van het H.A.V.O. diploma aan de katholieke scholengemeenschap St. Gregorius te Utrecht in 1987, heeft zij het vijfde jaar van het V.W.O aan het Bonifatius college te Utrecht met goed gevolg doorlopen (1988). In datzelfde jaar startte zij met de propedeuse van het HLO (hoger laboratorium onderwijs) aan de hogeschool van Utrecht te Utrecht. In 1989 vervolgde zij haar HLO opleiding met als studie richting Analytische Chemie. Haar 9 maanden durende stage volbracht zij in 1991 bij de divisie Analyse van TNO Voeding te Zeist. Onder leiding van C.G. van der Paauw deed zij onderzoek naar planaire polychloorbifenylen (PCB's) in botlevers met behulp van vloeistof- en gaschromatografische technieken. De HLO opleiding werd in 1992 met succes voltooid. Na haar stage bleef zij werkzaam bij dezelfde werkgroep als research medewerker. In 1997 werd haar loopbaan voortgezet bij de afdeling Bioanalyse van TNO Voeding te Zeist, waar zij zich biochemische technieken eigen maakte. Ondertussen volgde zij de cursus Biochemie en Toxicologie aan de Open Universiteit te Utrecht. Van 1 mei 2000 tot 1 mei 2005 was zij als assistent in opleiding (AIO) werkzaam bij dezelfde afdeling, alwaar het in dit proefschrift beschreven onderzoek werd uitgevoerd onder leiding van Prof. Dr. J. van der Greef, Dr. R.J.T Rodenburg en Dr. R.F. Witkamp. Sinds 1 mei 2005 is zij werkzaam als wetenschappelijk medewerker bij de afdeling Analytical Sciences van TNO Quality of Life te Zeist.



---

## Nawoord

De vijf jaren van mijn promotieonderzoek zijn voorbij gevlogen. Het lijkt alsof ik gisteren nog aan Els de Groene vroeg of het iets voor mij was: AIO zijn. Ik ben erg blij dat zij vol enthousiasme reageerde en voordat ik het wist was ik AIO. Helaas verliet Els al snel daarna TNO om haar carrière voort te zetten bij Unilever. Els, ik vond en vind het nog steeds jammer dat je niet bij ons bent gebleven. Ik bewonder je enthousiasme en positieve instelling, dat gaf mij een enorme impuls om een promotieonderzoek te starten. Eén van de belangrijkste taken van mijn onderzoek was het opzetten van proteomics technieken. Samen met o.a. Sonja Jespersen en Marco Gaspari hebben we het klaargespeeld om dit bij TNO op de rails te zetten. Sonja, je hebt me erg veel geleerd op het gebied van eiwitidentificatie, soms tot in de late uurtjes. Als je er eenmaal in zit dan raak je er aan verslaafd. Ik vind het jammer dat je TNO hebt verlaten, ik mis je gezelligheid en had graag nog meer van je geleerd. (mange lykke og kærlighed). Marco, ik vond het ook erg leuk om met jou samen te werken, maar helaas ben jij ook weer naar huis teruggegaan. In de loop der jaren was je niet alleen een collega AIO, maar ben je ook een goede vriend geworden. Ik hoop dat we in de toekomst contact blijven houden zowel privé als op proteomics gebied. (ringraziare e molto contentezza).

Daarnaast wil ik ook graag mijn kamergenoten benoemen. Gina Bottger, Barry Blankvoort en Robert Doornbos, ik vond het erg prettig om af en toe als analyticus even hardop te kunnen brainstormen over biochemische problemen. Robert, ik stel het erg op prijs dat je in de laatste jaren van mijn AIO onderzoek alle financiën hebt geregeld. Het langste heb ik samengewerkt met Angélique van Meeteren en Linda Le Noble. Ik waardeer jullie interesse en hulp bij het tot stand komen van dit proefschrift.

Buiten mijn eigen productgroep hebben ook vele anderen aan mijn onderzoek bijgedragen. Sabina Bijlsma, je hebt me een hoop geleerd over patroonherkenning. Ik vond je uitleg altijd erg duidelijk en de samenwerking heb ik altijd als erg prettig ervaren. Ik hoop dat we dit in de toekomst zullen voortzetten. Raymond van Hilten, ondanks dat je me helemaal hebt lek geprikt, ben ik je erg dankbaar voor al die keren dat je direct klaar stond om bloed te prikken. De stagiaires, Maarten Notenboom, Petra Blom en Danielle Broekhuizen, ik vond het erg leuk dat jullie bij mij stage wilden lopen. Bovendien was het een uitdaging om jullie wat te leren en te begeleiden. Ook de input van de mensen van de afdeling Analytical Services, in het bijzonder Martin Baak, Robert Schilt, Natascha van Heeringen-Overmars voor hun kennis op het gebied van beta-agonisten en radioactiviteit en de mensen van TNO-PG, Henrie Korthout, Mei Wang en Lex Nagelkerken voor hun cannabis kennis, wil ik niet vergeten te noemen.

---

Daarnaast wil ik de gastvrijheid van de afdeling Toxicology en Analytical Biosciences van de Universiteit Leiden vermelden en metname Marjo de Graauw, Ine Tijdens, en Bertil Hofte voor het gebruik van de apparatuur en jullie uitleg daarbij. Loes Beijersbergen wil ik graag bedanken voor haar goede zorgen en al het regelwerk.

Als laatste wil ik graag mijn familie en vrienden (V'96 en karetrekkers) bedanken voor de interesse die ze de afgelopen jaren in mij en mijn werk hebben getoond. Hierbij wil ik in het bijzonder Maurien Olsthoorn bedanken voor het doorlezen van het manuscript en het interessante congresbezoek in Sienna. Pa en Ma bedankt voor jullie steun bij alle stappen die ik tot nu toe genomen heb. Jullie stonden en staan altijd voor me klaar en dat zal ik nooit vergeten. Als aller laatste wil ik Jeroen bedanken voor zijn geduld, liefde, kopjes thee en lekkere maaltijden als ik weer laat thuis kwam of druk bezig was achter de computer. Ook je AIO-dip-film was erg opbeurend. Zonder jou steun en vertrouwen, was ik niet zover gekomen. Het is bijna achter de rug. Daarna kunnen we weer gezellig in de tuin werken, klussen en vele andere leuke dingen doen.

Kitty

---

## List of publications

Stierum, R., Gaspari, M., Dommels, Y., Ouatas, T., Pluk, H., Jespersen, S., Vogels, J., Verhoeckx, K., Groten, J. and van Ommen, B. (2003). Proteome analysis reveals novel proteins associated with proliferation and differentiation of the colorectal cancer cell line Caco-2. *Biochim Biophys Acta*, 1650, 73-91.

Verhoeckx, K.C., Bijlsma, S., de Groene, E.M., Witkamp, R.F., van der Greef, J. and Rodenburg, R.J.T. (2004). A combination of proteomics, principal component analysis and transcriptomics is a powerful tool for the identification of biomarkers for macrophage maturation in the U937 cell line. *Proteomics*, 4, 1014-28.

Verhoeckx, K.C., Bijlsma, S., Jespersen, S., Ramaker, R., Verheij, E.R., Witkamp, R.F., van der Greef, J. and Rodenburg, R.J.T. (2004). Characterization of anti-inflammatory compounds using transcriptomics, proteomics, and metabolomics in combination with multivariate data analysis. *Int Immunopharmacol*, 4, 1499-514.

Korthout, H.A.A.J., Verhoeckx, K.C.M., Witkamp, R.F., Doornbos, R.P., and Wang, M. (2005). Medicinal acidic cannabinoids. Patent number; WO2005072719 and EP1559423 (A1).

Verhoeckx, K.C.M., Doornbos, R.P., Witkamp, R.F., van der Greef, J., and Rodenburg, R.J.T. (2005) Beta-adrenergic receptor agonists induce the release of Granulocyte Chemotactic Protein-2, Oncostatin M, and Vascular Endothelial Growth Factor from macrophages. Accepted for publication in *Int Immunopharmacol*.

Verhoeckx, K.C.M., Gaspari, M., Bijlsma, S., Doornbos, R.P., van der Greef, J., Witkamp, R.F., and Rodenburg, R.J.T. In search of secreted protein biomarkers for the anti-inflammatory effect of  $\beta_2$ -adrenergic receptor agonists: application of DIGE technology in combination with multivariate and univariate data analysis tools. Accepted for publication in *J. Proteome Res*.

---

Verhoeckx, K.C.M., Doornbos, R.P., Witkamp, R.F., van der Greef, J., and Rodenburg, R.J.T. Inhibitory effects of the  $\beta_2$ -adrenergic receptor agonist Zilpaterol on the LPS-induced production of TNF- $\alpha$  *in vitro* and *in vivo*. Accepted for publication in J. Vet Pharmacol Ther.

Verhoeckx, K.C.M., Korthout, H.A.A.J., Lagerweij, T., Nagelkerken, N., Wang, M., van der Greef, J., Rodenburg, and R.J.T., Witkamp, R.F. Unheated *Cannabis sativa* extracts and its major compound THC-acid have potential anti-inflammatory properties not mediated by CB 1 and CB 2 receptor coupled pathways. Submitted for publication.

Gaspari, M., Verhoeckx, K.C.M., Verheij, E., and van der Greef, J. Integration of two-dimensional LC-MS with multivariate statistics for comparative analysis of proteomic samples. Submitted for publication.

---

## List of abbreviations

<b>A-FABP</b>	adipocyte-fatty acid binding protein
<b><math>\beta_2</math>-AR</b>	beta <sub>2</sub> -adrenergic receptor
<b>cAMP</b>	cyclic adenosine-3',5'-cyclic monophosphate
<b>CB</b>	cannabinoid
<b>CBD</b>	cannabidiol
<b>CBDa</b>	cannabidiolic acid
<b>CFU-G</b>	colony-forming unit granulocyte (granulocyte progenitor cell )
<b>CFU-GM</b>	colony-forming unit granulocyte-macrophage
<b>CFU-M</b>	colony-forming unit monocyte (monocyte progenitor cell)
<b>CNS</b>	central nervous system
<b>CXCL6</b>	granulocyte chemotactic protein-2
<b>CSA</b>	cross stain analysis
<b>D609</b>	tricyclodecan-9-yl-xanthogenate
<b>DIGE</b>	difference gel electrophoresis
<b>Ds</b>	discriminants
<b>EAE</b>	experimental autoimmune encephalomyelitis
<b>ELISA</b>	enzyme-linked immunosorbent assay
<b>ESI</b>	electrospray ionisation
<b>FBS</b>	fetal bovine serum
<b>FT-MS</b>	fourier transform mass spectrometer
<b>GCP-2</b>	granulocyte chemotactic protein-2
<b>GILT</b>	gamma interferon inducible lysosomal thiol reductase
<b>GPCRs</b>	GTP-binding protein-coupled receptors
<b>HPLC-IT-MS</b>	high performance liquid chromatography ion trap mass spectrometry
<b>ICAT</b>	isotopic coded affinity taq
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	interferon gamma
<b>IL-1</b>	interleukine-1
<b>IP<sub>3</sub></b>	inositol 1,4,5-triphosphate
<b>LDH</b>	lactate dehydrogenase
<b>LPC</b>	lysophosphatidylcholine
<b>LPS</b>	lipopolysaccharide
<b>MALDI</b>	matrix assisted laser desorption ionisation
<b>MDLC</b>	multidimensional liquid chromatography



---

<b>MIP-1<math>\beta</math></b>	macrophage inflammatory protein-1beta
<b>MHC</b>	major histocompatibility complex
<b>MVDA</b>	multivariate data analysis
<b>MS</b>	multiple sclerosis
<b>MUDPIT</b>	Multi Dimensional Protein Identification Technology
<b>NMR</b>	nuclear magnetic resonance
<b>NO</b>	nitric oxide
<b>11-OH-THC</b>	11-hydroxy- $\Delta^9$ - tetrahydrocannabinol
<b>OSM</b>	oncostatin M
<b>RP</b>	reverse-phase
<b>PB-M<math>\emptyset</math></b>	peripheral blood macrophages
<b>PB-MO</b>	peripheral blood monocytes
<b>PBS</b>	phosphate buffered saline
<b>PC</b>	principal component
<b>PCA</b>	principal component analysis
<b>PC-DA</b>	principal component discriminant analysis
<b>PCR</b>	polymerase chain reaction
<b>PCs</b>	principal components
<b>PC-PLC</b>	phosphatidylcholine phospholipase C
<b>PGE<sub>2</sub></b>	prostaglandin E <sub>2</sub>
<b>PMA</b>	phorbol 12- myristate 13-acetate
<b>PLA<sub>2</sub></b>	phospholipase A <sub>2</sub>
<b>PLS-DA</b>	partial least squares discriminant analysis
<b>RT</b>	reversed transcription
<b>SCX</b>	strong cation exchange
<b>SELDI</b>	surface enhanced laser desorption ionisation
<b>SILAC</b>	stable isotope labelling by amino acids in cell cultures
<b>TBST</b>	tris-buffered saline tween-20
<b>THC</b>	$\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol
<b>THCa</b>	$\Delta^9$ -tetrahydrocannabinoid acid
<b>THC-COOH</b>	11-nor-9-carboxy- $\Delta^9$ - tetrahydrocannabinol
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	tumor necrosis factor alpha
<b>TNF-<math>\beta</math></b>	tumor necrosis factor beta.
<b>VEGF</b>	vascular endothelial growth factor

---