

Appendix

Nederlandse Samenvatting

English Summary

List of Publication

About the Author

Nederlandse samenvatting

Door geneesmiddelen geïnduceerde orgaan toxiciteit is het belangrijkste probleem bij de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen en bij het gebruik van geneesmiddelen in de kliniek. De lever en de nieren zijn het meest gevoelig voor deze toxiciteit. De lever neutraliseert xenobiotica waaraan mensen worden blootgesteld en de nieren verwijderen afvalstoffen uit het bloed. Vanwege deze belangrijke rol in het ontgiften van het lichaam worden deze organen continu blootgesteld aan grote hoeveelheden giftige stoffen. Dit kan leiden tot schade aan deze organen. Onderzoek naar de moleculaire en cellulaire mechanismen die bijdragen aan door geneesmiddelen geïnduceerde leverschade ('Drug Induced Liver Injury', ofwel 'DILI') en door geneesmiddelen geïnduceerde nierschade ('Drug Induced Kidney Injury', ofwel 'DIKI') zal nieuwe inzichten bieden die kunnen helpen bij de voorspelling van orgaanbeschadiging veroorzaakt door geneesmiddelen en andere xenobiotica.

In dit proefschrift hebben we de dynamiek van cellulaire stressreacties in de lever en de nieren na blootstelling aan een reeks chemische model stoffen in kaart gebracht om een meer overzichtelijk beeld te krijgen in DILI en DIKI. We hebben meerdere uitgebreide '*in vitro*' (in cel modellen) en '*in vivo*' (in levende organismes) onderzoeken uitgevoerd om de dynamiek van deze cellulaire reacties te begrijpen en te bepalen hoe deze '*in vitro*' bevindingen vertaald kunnen worden naar een '*in vivo*' systeem. Het bestuderen van de verschillende expressie niveaus van RNA transcripten binnen een cel, ofwel 'transcriptomics', stond centraal in dit onderzoek en werd aangevuld met andere methodologieën, zoals testen met fluorescente signaal rapporterende, 'reporter', cellen en immunohistochemie, om zo de mechanismes van geneesmiddel geïnduceerde orgaan toxiciteit in zowel de lever als de nier te ontrafelen.

In **hoofdstuk 1** hebben we transcriptomics uitgevoerd op de nieren van ratten die zijn blootgesteld aan verschillende nefrotoxische stoffen uit de TG-GATES-database in meerdere doseringen en na verschillende tijdstippen van blootstelling. Een netwerkanalyse genaamd 'Weighted Gene Co-regulated Network Analysis' (WGCNA) werd toegepast om deze transcriptomische data te analyseren. Deze analyse heeft netwerken van genen gegenereerd die tot expressie werden gebracht als reactie op de blootstelling aan specifieke geneesmiddelen (modules). De activiteit van de afzonderlijke modules werd gekwantificeerd met behulp van een score op basis van de expressiewaarden van de genen binnen deze modules. Om de biologische relevantie te verbeteren werd elke module geannoteerd met gerelateerde cellulaire functies. Om de resultaten van deze WGCNA eenvoudig weer te geven, is een op webpagina's gebaseerd platform, de 'DIKI TXG-MAPr', opgericht. De gebruiksvriendelijke interface van dit platform maakt het mogelijk om de cellulaire processen, die worden geactiveerd als reactie op de nefrotoxische stoffen, op een interactieve manier te onderzoeken. Zo hebben wij uiteindelijk cellulaire reacties kunnen identificeren en kwantificeren die werden geïnduceerd in de door cisplatine beschadigde nieren van ratten. Bovendien hebben we met behulp van transcriptomics specifieke regio's van de nefronen geïsoleerd met behulp van microdissecties met een laser ('laser capture microdissection', ofwel 'LCM'). Dit om de verschillende expressiepatronen van specifieke nefron segmenten na behandeling met cisplatine te kunnen onderscheiden. Ten slotte hebben we de DIKI TXG-MAPr uitgebreid met een extra set van transcriptomische data verkregen uit drie verschillende cellijnen, RPTEC-TERT1 (onsterfelijk gemaakte humane proximale tubuluscellen), HPPTec (humane primaire proximale tubuluscellen) en RPPTec (rat primaire proximale tubuluscellen), allen blootgesteld aan cisplatine. We ontdekten dat de reacties van de humane cellijnen (RPTEC-TERT1 en HPPTec) sterk met elkaar gecorreleerd waren. Al met al bleek dit platform een krachtig instrument om het mechanistische begrip van DIKI te verbeteren.

In **hoofdstuk 2** hebben we verder onderzoek gedaan naar de door cisplatine geïnduceerde cellulaire responsen in de verschillende nefronensegmenten. We voerden een systematische ‘*in vivo*’ studie uit bij ratten die waren blootgesteld aan cisplatine met verschillende doses, gedurende verschillende tijden (tot 29 dagen). Hiervoor hebben we de LCM-techniek verder geoptimaliseerd en met succes toegepast om de interessegebieden van de nieren te isoleren. Dit zijn de glomeruli [GM], corticale proximale otubuli [CPT] en perimedulaire proximale tubuli [PPT]). De veranderingen in genexpressie gerelateerd aan door geneesmiddelen geïnduceerde schade werden gekwantificeerd met behulp van een gerichte, grootschalige, transcriptomische analyse (TempOseq). Deze transcriptomics dataset werd verder geanalyseerd met behulp van de DIKI TXG-MAPr beschreven in **hoofdstuk 1**. We ontdekten dat specifieke cellulaire responsen werden geïnduceerd door cisplatine-toxiciteit in de verschillende regio’s van de nefronen. De PPT’s bleken het meest gevoelige gebied te zijn, en daar kon de sterke en aanhoudende DNA-schade respons worden gekoppeld aan de waargenomen pathologie. Daarentegen vertoonden de CPT’s een sterkere regeneratieve respons, waaronder de verhoging van genexpressie van genen betrokken bij ribosomale biogenese en epitheliale-mesenchymale overgang. Interessant is dat deze regio specifieke respons dynamiek niet kon worden vastgelegd wanneer gekeken werd naar de respons in de gehele nier. In dit hoofdstuk demonstreerden we dus een verfijnde methodologie die de resolutie voor het bestuderen van de activering van de cellulaire stress responses in de beschadigde nieren verhoogt. Deze bevindingen toonden een verschillende gevoeligheid van elk nefronsegment voor nefrotoxische middelen. Deze nieuw gegenereerde DIKI TXG-MAPr onthulde ook cisplatine-gerelateerde reacties die gelijktijdig werden gemoduleerd in specifieke niersegmenten.

In **hoofdstuk 3** hebben we de dynamiek van eiwitexpressie gecombineerd met ‘logic ordinary differential equations’ (ODE) modelleringsbenaderingen om de modulering van adaptieve cellulaire responses geassocieerd met het optreden van DILI te bestuderen. We gebruikten een reeks van HepG2 fluorescerende reporter cellijnen die eerder waren ontwikkeld om op grote schaal verschillende processen te kunnen waarnemen. Deze reeks cellijnen maken met behulp van een fluorescent signaal de visualisatie van de volgende adaptieve stress responses mogelijk: oxidatieve stress (SRXN1, HMOX1, NRF2), endoplasmatisch reticulum stress (ATF4, CHOP, XBP1, BIP), DNA-schade responses (P53, P21, BTG2, MDM2) en ontstekingsreacties (ICAM1, A21). Ook de celdood per individuele cel werd gevolgd over tijd met behulp van fluorescerende stoffen die apoptotische of necrotische cellen aankleuren, zoals annexin V (apoptose) en PI (necrose). De cellen werden vervolgens blootgesteld aan een reeks DILI stoffen en gedurende 72 uur in beeld gebracht, waardoor de activering van verschillende stressreacties en de cellulaire consequenties kon worden gekwantificeerd. Om de meest relevante routes te vinden die celdood induceren in hepatocyten die zijn blootgesteld aan deze stoffen, werd een ODE-modelleringsbenadering toegepast op de experimentele data. De experimentele data op zichzelf, en in combinatie met de gemaakte modellen, ondersteunden een zeer belangrijke rol van de endoplasmatisch reticulum (ER) stress response in de hepatocellulaire dood tijdens DILI.

Vervolgens hebben we ons in **hoofdstuk 4** gericht op het werkingsmechanisme van één specifieke verbinding, nitrofurantoïne, die was geïdentificeerd als één van de sterkste stoffen om DILI te induceren in **hoofdstuk 3**. We hebben hiervoor de transcriptomische veranderingen gemeten van primaire humane hepatocyten (PHH) blootgesteld aan nitrofurantoïne en geanalyseerd met behulp van een PHH TXG-MAPr. Deze analyse kwam overeen met de eerdere bevindingen in HepG2 cellen, en liet zien dat de oxidatieve en endoplasmatisch reticulum stress responses sterk worden geactiveerd in beide celtypen na blootstelling aan nitrofurantoïne. Op basis van de TXG-MAPr hebben we een sterke verhoging van de expressie van *GCLC* en *GCLM* waargenomen. Dit zijn genen die betrokken zijn bij de productie van glutathion (GSH). Verdere experimentele validatie bevestigde de activering van de oxidatieve stress die leidde tot een significante toename van de GSH-concentratie bij blootstelling aan

nitrofurantoïne. Overeenkomend met deze resultaten leidde een blootstelling van niet-cytotoxische concentraties van nitrofurantoïne voorafgaand aan verdere blootstelling met hepatotoxische stoffen tot een lagere gevoeligheid van de cellen hiervoor, mogelijk als gevolg van de verhoging van het GSH-niveau. De toename van GSH-niveaus suggereerde het verband tussen de activering van de gen netwerken (oxidatieve stress module), verhoging van expressie van bijhorende genen (*GCLC* en *GCLM*) en de cellulaire uitkomsten (toename van GSH-concentratie). Al met al hebben we in **hoofdstuk 3** en **hoofdstuk 4** een sterk verband aangetoond tussen transcriptomische verstoring en onderliggende cellulaire gebeurtenissen bij blootstelling aan DILI stoffen. Bovendien hebben we ook het gebruik van HepG2 cellen aangetoond als een geldig 'in vitro' testsysteem voor de lever, geschikt voor grootschalige experimenten, dat op coherente wijze de activering van cellulaire reacties vertoont bij blootstelling aan DILI stoffen.

Nadat we de relevantie van de HepG2 cellen als valide *in vitro* testsysteem voor levertoxiciteit hebben bevestigd, hebben we in **hoofdstuk 5** gennetwerken gegenereerd met behulp van WGCNA in deze cellijn. We hebben de HepG2 cellen blootgesteld aan een brede reeks chemische stoffen (DILI-geneesmiddelen, cytokinen, groeifactoren en negatieve en positieve controle stoffen die bekend zijn om verschillende stressroutes wel of niet te activeren) in verschillende concentraties en gedurende verschillende tijden, en hebben vervolgens een gerichte transcriptomische analyse uitgevoerd (TempO-seq). Met deze grote dataset waren we in staat om een set van specifieke modules te identificeren die geactiveerd werden na blootstelling aan DILI stoffen, die ook geconserveerd zijn in PHH-cellen (**hoofdstuk 4**). Verder identificeerden we modules die een hoge correlatie vertoonden met de celdood veroorzaakt door de eerder geteste stoffen (data uit **hoofdstuk 3**). Vervolgens hebben we de causaliteit van de genen, die sterk verhoogt tot expressie kwamen binnen modules gecorreleerd met celdood, gevalideerd met behulp van RNA-interferentie (RNAi) experimenten. Op basis van de bevindingen hebben we mogelijke zeer belangrijke gebeurtenissen van door DILI geïnduceerde celdood geïdentificeerd.

Samenvattend, dit proefschrift demonstreert de toepasbaarheid van de op gennetwerk-gebaseerde benadering als een verfijnde en nieuwe methodologie voor het evalueren van cellulaire responsen die geneesmiddelen geïnduceerde lever- en nierschade reguleren. De integratie met de fluorescente rapporterende cel experimenten en immunohistochemie ondersteunde de resultaten van de transcriptomische data. Uiteindelijk hebben we niet alleen het mechanistische begrip van door geneesmiddelen geïnduceerd orgaanletsel verder ontwikkeld, maar hebben we ook een nieuwe methodologie ontwikkeld voor een nauwkeurigere voorspelling van toxiciteit, wat de weg vrijmaakt voor de ontwikkeling van nieuwe methoden voor de beoordeling van de veiligheid van geneesmiddelen.

English Summary

Drug induced organ toxicity is the main problem of the drug development and drug usage in the clinic. The liver and kidneys are the most sensitive organs towards drug induced toxicity. The liver neutralizes xenobiotic to which human are exposed to while the kidneys remove waste products from the blood. Due to their detoxification function, these organs are continuously exposed to high amount of toxicants leading to potential injury. Investigating the molecular and cellular mechanisms contributing to drug-induced liver injury (DILI) and drug-induced kidney injury (DIKI) will open new avenues that can help in the prediction of induced organ injury caused by drugs as well as other xenobiotics.

In this thesis, we mapped the dynamics of cellular stress responses in the liver and kidneys upon the exposure of a set of model compounds in order to gain a more holistic insight in DILI and DIKI. We conducted multiple extensive *in vitro* and *in vivo* studies to understand the dynamics of these cellular responses and determined the translation of our findings from *in vitro* to *in vivo*. Transcriptomics analysis was central in the research which was complemented with other methodologies, such as reporter cell assay, immunohistochemistry, to unravel the mechanisms of drug-induced organ toxicity in both liver and kidney.

In **chapter 1**, we extracted transcriptomic data derived from rat kidneys exposed to various nephrotoxicants with multiple dose and time points from the TG-GATES database. A network based analysis named Weighted Gene Co-regulated Network Analysis (WGCNA), was applied to analyze this high content transcriptomic data. This analysis generated networks of genes that were co-expressed in response to the specific drug exposure (modules). The activity of the individual modules was quantified using a score based on the expression values of the gene memberships. In order to improve the biological relevance, each module was annotated for related cellular functions. A facile web page based platform named DIKI TXG-MAPr was established in order to display the results of the WGCNA. This user-friendly interface of this platform allows interactive data mining of the cellular processes activated in response to the nephrotoxicants. In particular, we were able to identify and quantify the cellular responses induced by cisplatin in injured rat kidneys as well as delineate the different expression patterns of specific nephron segments responses using newly generated transcriptomics data from laser captured isolated regions. Finally, we extended the Kidney TXG-MAPr with an additional set of transcriptomics data set obtained from three different cell lines, RPTEC-TERT1 (immortalized human proximal tubule cells), HPPTec (human primary proximal tubule cells), and RPPTec (rat primary proximal tubule cells) also exposed to cisplatin. We found that the responses of human derived cell lines (RPTEC-TERT1 and HPPTec) were highly correlated. Altogether, this platform proved to be a powerful toxicogenomics tool to improve mechanistic understand of DIKI.

In **chapter 2**, we investigated the cisplatin-mediated modulation of the cellular responses elicited in different nephron segments. We performed a systematic *in vivo* study in rats exposed to cisplatin with different doses and time points (up to 29 days). A laser capture microdissection (LCM) methodology was developed and successfully applied to isolate the regions of interest from the kidneys (glomeruli [GM], cortical proximal tubules [CPT], and perimedullary proximal tubules [PPT]). The changes in gene expression related to drug-induced injury were quantified using high throughput targeted transcriptomic (HTTr) method (TempOseq). This transcriptomics data set was further analyzed using the the kidney TXG-MAPr described in **chapter 1**. We uncovered region nephron specific cellular responses induced by cisplatin toxicity. The perimedullary proximal tubules were found to be the most sensitive region where a strong and sustained DNA damage response could be linked to the observed pathology. In contrast, the CPTs exhibited a stronger regenerative response including ribosomal biogenesis and epithelial-mesenchymal transition. Interestingly, these spatial response dynamics were

not captured from the whole kidneys. In this chapter, we showcased a refined methodology increasing the resolution of the dynamics of the cellular response activation in the injured kidneys. These findings showed different liability of each nephron segments towards nephrotoxicants. This newly generated DIKI TXG-MAPr revealed cisplatin-related responses that were concomitantly modulated in specific kidney segments.

In **chapter 3**, we combined the dynamics of protein expression and the logic-ODE modeling approaches to study the modulation of adaptive cellular responses associated to the occurrence of DILI. We utilized a panel of HepG2 fluorescent reporter cell lines previously established for high content imaging. This panel includes reporters for adaptive stress response pathways: oxidative stress (SRXN1, HMOX1, NRF2); endoplasmic reticulum stress (ATF4, CHOP, XBP1, BIP); DNA damage (P53, P21, BTG2, MDM2) and inflammation (ICAM1, A21). Cell death was monitored in time and space using specific fluorescent dyes such as annexin V (apoptosis) and PI (necrosis). The cells were then exposed to a set of DILI compounds and imaged for 72 hours allowing the quantification of the long-term activation of different stress responses as well as cellular fate. In order to find the most relevant pathways inducing cell death in hepatocytes exposed to the compound set, a logic ODE modelling approach was applied to the experimental data. Both the experimental data combined with the modeling supported a key role for the endoplasmic reticulum (ER) stress in the hepatocellular death during DILI.

Next, in **chapter 4**, we focused on the mode-of action of one specific compound, nitrofurantoin identified as one of the strongest DILI inducer in chapter 3. We further measured the transcriptional changes of primary human hepatocytes (PHH) exposed to nitrofurantoin using a PHH TGX-MAPr and validated the data found with the HepG2 cells: oxidative stress and ER stress are strongly activated in both cell types upon nitrofurantoin exposure. Based on the TXG-MAPr, we observed a strong upregulation of *GCLC* and *GCLM*, genes involved in the production of glutathione (GSH). Further experimental validation confirmed the activation of the oxidative stress leading to the significant increase of GSH concentration upon nitrofurantoin exposure. Corroborating the previous findings, pre-exposure of non-cytotoxic concentration of nitrofurantoin led to the lower sensitivity of the cells towards the other hepatotoxicants possibly due to the increase of the GSH level. The increase of GSH levels suggested the connection between the activation of the gene networks (oxidative stress module), upregulation of the gene membership (*GCLC* and *GCLM*), and the cellular outcomes (increase of GSH concentration). Altogether, in **chapter 3** and **chapter 4**, we showed the strong connection between transcriptomic perturbation and downstream cellular events upon DILI compound exposures. Additionally, we also demonstrated the utilization of HepG2 cells as a valid high throughput liver *in vitro* test systems that coherently exhibits the activation of cellular responses upon exposure to DILI compounds.

Having confirmed the relevance of the HepG2 cells as a valid *in vitro* test system for liver toxicity, in **chapter 5** we generated gene networks using WGCNA with this cell line. We exposed the HepG2 cells to a broad set of compounds (DILI drugs, stress pathway reference compounds, cytokines, growth factors, and negative) with different concentrations and time points subjected to the high throughput targeted transcriptomic technology (TempO-seq). With this large data set, we were able to identify a set of specific modules activated upon DILI compound exposures which were preserved in PHH cells (**chapter 4**). Furthermore, we identified modules that showed high correlation with the cell death induced by the compounds previously tested with high content imaging (data from **chapter 3**). We then validated the causality of the highly upregulated gene memberships from the high cell death-correlated modules using RNA interference (RNAi) experiments. Based on the findings, we identified potential key events of DILI induced cell death.

In summary, this thesis demonstrated the applicability of the gene network-based approach as a refined and novel methodology in evaluating cellular responses which regulate drug induced liver and kidney injury. The integration with the fluorescent reporter cell assays, and immunohistochemistry supported the outcomes of the transcriptomics data. Ultimately, not only we further advanced the mechanistic understanding of drug induced organ injury, but we also develop a new methodology for more accurate toxicity prediction paving the way for the development of new drug safety assessment methods.

List of Publications

Wijaya L.S., Rau C., Braun T.S., Marangoz S., Spegg V., Vlasveld M., Albrecht W., Brecklinghaus T., Kamp H., Beltman J.B., Hengstler J.G., Water B. van de, Leist M. & Schildknecht S. (2021), Stimulation of de novo glutathione synthesis by nitrofurantoin for enhanced resilience of hepatocytes, *Cell Biology and Toxicology*.

Wijaya L.S., Trairatphisan P., Gabor A., Niemeijer M.C., Keet J., Alcalà Morera A., Snijders K.E., Wink S., Yang H., Schildknecht S., Stevens J.L., Bouwman R.J.P., Kamp H., Hengstler J., Beltman J.B., Leist M., Le Dévédec S.E., Saez-Rodriguez J. & Water B. van de (2021), Integration of temporal single cell cellular stress response activity with logic-ODE modeling reveals activation of ATF4-CHOP axis as a critical predictor of drug-induced liver injury, *Biochemical Pharmacology* 190.

Lukas S. Wijaya, Attila Gabor, Iris E. Pot, Luca van de Have, Julio Saez-Rodriguez, Sylvia E. Le Dévédec, Giulia Callegaro, Bob van de Water, A Network-based Transcriptomic Landscape of HepG2 cells to Uncover Causal Gene Cytotoxicity Interactions Underlying Drug-Induced Liver Injury, manuscript in preparation

Lukas S. Wijaya, Steven J. Kunnen, Panuwat Trairatphisan, Ciaran Fisher, Meredith E. Crosby, Kai Schaefer, Karen Bodie, Erin E. Vaughan, Laura Breidenbach, Thomas Reich, Diana Clausznitzer, Sylvestre A. Bonnet, Sipeng Zheng, Chantal Pont, James L. Stevens, Sylvia Le Dévédec, Bob van de Water, Spatial-temporal transcriptomics in rat kidney after cisplatin treatment unravel sustained activity of DNA damage response and distinct regeneration programs in the perimedullary proximal tubules associated with elevation of renal urinary clusterin, manuscript in preparation

Steven J. Kunnen, **Lukas S. Wijaya**, Jeffrey J. Sutherland, Giulia Callegaro, Panuwat Trairatphisan, Jennifer Mollon, Git Chung, Keith Pye, Siannah Shuttleworth, Claire Devlin, Claire Teague, Ciaran Fisher, Solène Grosdidier, Yue W. Webster, James L. Stevens, Bob van de Water, Kidney TXG-MAPr: gene co-expression modules to support drug safety assessment, manuscript in preparation

Hiemstra S.W., Fehling-Kaschek M., Kuijper I.A., Bischoff L.J.M., **Wijaya L.S.**, Rosenblatt M., Esselink J.J., Egmond A. van, Mos J., Beltman J.B., Timmer J., Water B. van de & Kaschek D. (2022), Dynamic modeling of Nrf2 pathway activation in liver cells after toxicant exposure, *Scientific Reports* 12(1): 7336.

Vrijenhoek N.G., Wehr M.M., Kunnen S.J., **Wijaya L.S.**, Callegaro G., Moné M.J., Escher S.E. & Water B. van de (2022), Application of high-throughput transcriptomics for mechanism-based biological read-across of short-chain carboxylic acid analogues of valproic acid, *ALTEX : Alternatives to Animal Experimentation*.

Koenders S.T.A., **Wijaya L.S.**, Erkelens M.N., Bakker A.T., Noord V.E. van der, Rooden E.J. van, Burggraaff L., Putter P.C., Botter E., Wals K., Elst H. van den, Dulk H. den, Florea B.I., Water B. van de, Westen G.J.P. van, Mebius R.E., Overkleeft H.S., Le Dévédec S.E. & Stelt M. van der (2019), Development of a Retinal-Based Probe for the Profiling of Retinaldehyde Dehydrogenases in Cancer Cells, *ACS Central Science* 5(12): 1965-1974.

den Braver-Sewradj Shalenie P. den Braver Michiel W. van Dijk Marc Zhang Yongjie Dekker Stefan J. **Wijaya Lukas**, Vermeulen Nico P.E. Richert Lysiane Commandeur Jan N.M. Vos J. Chris (2018), Inter-individual Variability in Activity of the Major Drug Metabolizing Enzymes in Liver Homogenates of 20 Individuals, *Current Drug Metabolism* 19(4): 370-381 (381).

Zhang Yongjie, **Wijaya Lukas**, Dekker Stefan J., Vermeulen Nico P.E., Commandeur Jan N.M. (2018), High-performance liquid chromatography-based assay for glutathione transferase theta 2 activity: Application to characterize interindividual variability in human liver fractions, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 156: 181-188.

About the Author

Lukas Surya Wijaya was born on 19th October 1992 in Sleman, Indonesia. In 2014 *they graduated from Sanata Dharma University obtaining the bachelor degree of pharmacy. From the same university, they finished the apothecary degree in 2015. They moved to the Netherland in 2015 pursuing their master degree in toxicology under the supervision of Dr. Jan Commandeur studying the metabolic activity of glutathione S-transferase. After obtaining their master diploma in 2017, they started as a PhD student in Leiden Academic Centre for Drug Research (LACDR) under the supervision of prof. Dr. Bob van de Water and Dr. Sylvia le Dévédec. During the PhD study, they investigated the dynamics of cellular responses linked to the mechanisms of drug-induced liver and kidney injury. Currently, they are employed as a post-doctoral researcher in the lab of prof. Dr. Bob van de Water to establish an integrative platform of quantitative adverse outcome pathways for drug safety assessment.

*They : 3d — used to refer to a single person whose gender identity is nonbinary (see NONBINARY sense c) – (<https://www.merriam-webster.com/dictionary/they>)