

De biochemische sporen van ziekte zijn vaak al in allerlei lichaamsvloeistoffen te zien, zelfs voordat symptomen de kop opsteken. Dat biedt talloze kansen voor nieuwe behandelingen, maar die kennis ontsluiten met metabolomics is een veeleisende wetenschap.

GEZONDHEID EN ZIEKTE IN BLOED GESCHREVEN

ARNO VAN 'T HOOG

“W e kunnen nu op basis van dertien metabolieten voorspellen wie er binnen tien jaar een hartinfarct zal ontwikkelen. Wie er ziek wordt en wie niet kunnen we zien in het metaboloom. Dit onderzoek toont aan dat de hoop dat we met metabolomics beter kunnen gaan voorspellen en gericht kunnen behandelen, terecht is.” Moleculair epidemioloog Marian Beekman van het Netherlands Consortium for Healthy Ageing ziet dat metabolomics langzaam praktische resultaten oplevert. Op dit moment voorspellen artsen het risico op hart- en vaatziekten en daarmee leefstijladvies en medicinale behandeling op basis van zaken als familiegeschiedenis, leeftijd, geslacht, cholesterol, bloeddruk en roken.

RISICOSCHATTING

Beekmans collega, Anika Vaarhorst, liet in juli in *American Heart Journal* zien dat de risicoschatting voor hart- en vaatziekten net zo nauwkeurig is met de NMR-spectra van dertien bloedmetabolieten, in

combinatie met leeftijd en geslacht. Het gaat om de bloedwaarden van onder meer lipiden, glucose, valine, creatinine en 1,5-anhydrosorbitol.

Om iets te kunnen zeggen over de invloed van metabole verschillen op gezondheid en ziekten, moet je grote groepen patiënten jarenlang volgen, stelt Beekman. Zonder methodologisch goed

‘We zien in het metaboloom wie ziek wordt’

opgezette klinische studies kun je namelijk met metabolomics geen harde conclusies trekken.

Zodoende voerden onderzoekers *metabolic profiling* uit van bloedplasma met NMR-spectra in combinatie met gedetailleerde kennis van de ontwikkeling van hart- en vaatziekten bij dezelfde mensen in het daarop volgende decennium. Vervolgens zochten ze naar statistische verbanden tussen niveaus van metabolieten en het al dan niet optreden van hart- en vaatziekten.

Metabolieten staan van oudsher centraal in de diagnostiek. Suiker, cholesterol en ureum: de geneeskunde kijkt vaak naar metabolieten in lichaamsvloeistoffen om meer te weten te komen over de patiënt. Metabolomics zorgt nu voor schaalvergroting, want er zit zo veel meer in bloed, urine en hersenvloeistof dan een dozijn stoffes. The Human Metabolome Database (HMDB) telt al ruim 41.000 verschillende metabolieten.

WEGWIJZERS

Maar in een woud met metabolieten staan geen wegwijzers naar betere klinische testen of nieuwe doelwitten om nieuwe geneesmiddelen te ontwikkelen. Wie wil ontdekken of bepaalde metabolieten betrokken zijn bij hartfalen, alzheimer of migraine, moet zowel uitgekende experimenten ontwerpen als zijn analyses en statistiek helemaal op orde hebben.

Dat is precies wat het Netherlands Metabolomics Centre (NMC) sinds 2008 heeft gedaan. Het NMC had 50 miljoen euro te besteden en verdeelde dat een op een tussen technologieontwikkeling en

het oplossen van praktische medische onderzoeksvragen.

“Integere, reproduceerbare data genereren is daarbij erg belangrijk”, zegt Thomas Hankemeier, wetenschappelijk directeur van het NMC en hoogleraar analytical biosciences aan de Universiteit Leiden. In de metabolomics graaf je met statistische instrumenten naar signalen in metabolietconcentraties, die zieke en gezonde patiënten van elkaar onderscheiden. Dan is het van groot belang het onderscheid tussen relevante verschillen en toevallige meetvariaties te kennen.

Om die reden voerde het NMC ook veel onderzoek uit naar validatie en reproduceerbaarheid van nieuwe analysemethoden. Hankemeier: “Dat is cruciaal voor betrouwbare data. Als een ziekenhuis drieduizend bloedmonsters levert, moet ik toch een kwaliteitscertificaat kunnen leveren bij de data die we produceren.”

Het voordeel van deze werkwijze is dat als je voor een specifiek project een analytische oplossing ontwikkelt, er een gevalideerd technologieplatform ontstaat dat je ook voor andere onderzoeksvragen kunt gebruiken. Het NMC heeft nu elf gevalideerde analyseplatforms in de aanbieding, die het routinematig inzet, ook voor contractonderzoek voor industriële partijen (zie tabel). De chemische eigenschappen van de metabolieten bepalen daarbij de monstervoorbereiding, interne standaarden en analysetechnologie.

Hankemeier: “Onderzoek aan virale infecties levert bijvoorbeeld ook technieken om onderzoek te doen aan nierfalen bij diabetespatiënten. Je hebt namelijk in het lichaam een aantal cruciale metabole processen – oxidatieve stress, ontstekingsreacties, vasculaire mechanismen die bij verschillende ziektes een rol spelen. De uitdaging is



FOTO: VITALIJ_PH/ISTOCK.COM

| Globale profiling | Metabolieten | Aantal | Analysetechnologie |
|----------------------|---|--------|--------------------|
| Apolaire lipiden | Fosfolipiden, cholesterolesters, ceramides, sfingomyelinen, di-, triglycerides. | 800 | LC-MS |
| Polaire lipiden | Vrije vetzuren, lysofosfatidylcholines, lysofosfatidyletanolamides. | 150 | LC-MS |
| Global medium polair | Suikers, korteketenvezuren, amines, fenolische verbindingen. | 200 | GC-MS |
| Global apolair | Kleine peptiden, steroïden, cofactoren. | 400 | RPLC-MS |

| Gerichte profiling | Metabolieten | Aantal | Analysetechnologie |
|------------------------------------|---|--------|--------------------|
| Oxylipines | Gehydroxyeerde vetzuren, eicosanoiden, resolvins (ontstekingsmediatoren). | 120 | LC-MS/MS |
| Biogene amines | Aminozuren, neurotransmitters, catecholamines, polyamines. | 100 | LC-MS/MS |
| Acylcarnitines en darmmetabolieten | Acylcarnitines, choline, betaine, trimethylamine N-oxide (TMAO). | 50 | LC-MS/MS |
| Galzuren | Glycogalzuur, gaurogalzuur. | 22 | LC-MS |
| Oxydatieve, nitrosatieve stress | Isoprostanen, sfinganine, sfingosine-fosfaat. | 60 | LC-MS |
| Foliumzuren | Foliumzuur en metabolieten. | 7 | LC-MS |

om de toestand van die processen uit te lezen met metabolomics.”

Het NMC werkte onder meer aan de metabole signatuur van blootstelling aan aspirine (zie kader). Aspirine wordt breed ingezet als antistollingsmiddel, maar lang niet iedereen reageert erop. “We kregen de vraag of we kunnen voorspellen wie er reageert of niet. Zo vonden we een

‘Reproduceerbaarheid is cruciaal voor betrouwbare data’

nieuwe biomarker.” De biomarker vonden de onderzoekers door met LCMS naar metabole verschillen te zoeken in gezonde proefpersonen die twee weken aspirine slikten. Het serotonine-metabolisme blijkt een bepalende factor te zijn in de respons op aspirine.

Een ander project keek naar de lipidenprofielen in het bloed van ouderen. In sommige families worden mensen een stuk ouder dan gemiddeld en met daarbij een gemiddeld betere gezondheid. Zo hebben ze een kleinere kans op suikerziekte, hoge bloeddruk en hartfalen. “Je wilt natuurlijk weten waarom zij gezonder zijn dan vergelijkbare personen uit andere families”, zegt Beekman. “We zien namelijk geen verschillen in BMI, voeding of bewegingspatroon.” In het bloed circuleren honderden verschillende lipiden die van invloed kunnen zijn op de algemene gezondheid, bijvoorbeeld omdat ze een rol spelen bij de regulatie

van ontstekingsreacties of de neutralisatie van oxidatieve schade. Om die rol te onderzoeken extraheerde het NMC 30 microliter bloedplasma van gezonde ouderen en controlepersonen en onderzocht dat op lipidsamenstelling met UPLC-MS.

LIPIDOOM

Vervolgens zochten de onderzoekers naar statistische verbanden tussen lipideniveaus en gezonde ouderdom. Dat bleek voor negentien lipiden het geval: het lipidenprofiel dat hoort bij een gezond lang leven heeft bijvoorbeeld meer fosfocholines en sfingomyelinen. Beekman: “Vooral bij vrouwen die gezond oud worden, zien we ook een gunstiger verhouding tussen enkelvoudige en meervoudig onverzadigde vetzuren. Dat wijst erop dat het lipidoom minder gevoelig is voor oxidatieve stress.”

Dit onderzoek biedt vooral ingangen voor verdere studie naar veranderingen van metabole mechanismen bij veroudering, aldus Beekman. Dat geldt voor de meeste metabolomicstudies. “We zien in eerste instantie allerlei associaties en verschillen tussen groepen patiënten, maar we weten vaak nog niet wat oorzaak en gevolg is. Bovendien zijn er zo veel verschillende platforms, die elk een andere metabool beeld van het bloed laten zien. Bij aanvang is vaak nog niet duidelijk waar je het beste naar kunt kijken en welk platform het meest geschikt is.”