

Proteomics schept nieuwe diagnostische mogelijkheden

Technieken om snel en eenvoudig eiwitprofielen te meten in lichaamsmateriaal komen beschikbaar. Zo'n eiwitprofiel is een *fingerprint* waarin afwijkingen kunnen worden aangetoond waardoor verschillen tussen gezonde en zieke mensen zichtbaar zijn. De eerste pogingen om op deze manier nieuwe biomarkers te vinden om tumoren op te sporen, lijken veelbelovend. Opvallend zijn de hoge gevoeligheid en specificiteit. Staan we aan de vooravond van een revolutie?

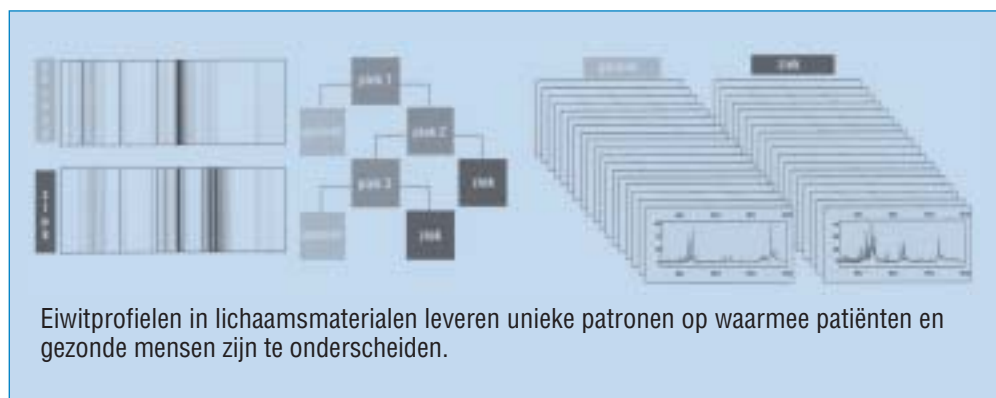
De ontrafeling van het menselijk genoom heeft een belangrijke impuls gegeven aan de ontwikkeling van nieuwe technieken om de werking van DNA en genen verder te bestuderen. Dit heeft onder meer geleid tot uitgebreid onderzoek naar de genproducten, de eiwitten. Deze worden in de cel geproduceerd doordat de DNA-code van het gen wordt overgeschreven en vervolgens wordt vertaald naar eiwitten. Afhankelijk van het type spelen eiwitten de rol van bijvoorbeeld enzym, bouwsteen of transportmolecuul en sturen ze allerlei biologische processen aan; soms als afzonderlijk eiwit, soms als eiwitcomplex. Kortom, het goed functioneren van een cel valt of staat met de aanwezigheid van de juiste eiwitten op de juiste plaats op het juiste tijdstip en in de juiste samenstelling. Eiwitten zijn de 'werkpaarden' van de cel wordt vaak gezegd. De complete set van alle eiwitten die in het lichaam voorkomen heet het proteoom. En proteomics is de relatief jonge wetenschap die probeert identiteit en functie van al deze eiwitten te achterhalen. Om hoeveel het gaat,

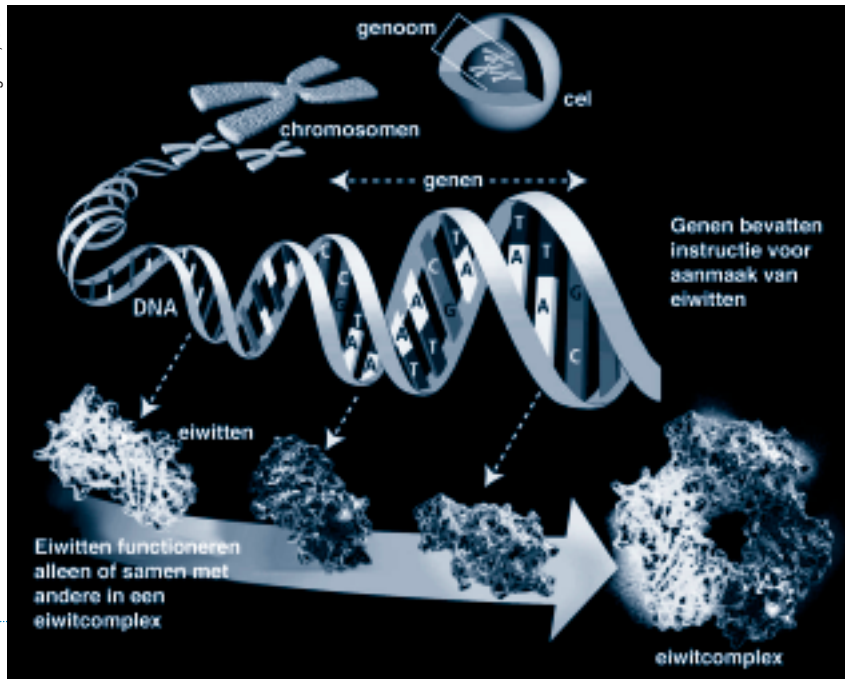
durft niemand te voorspellen, maar het loopt in de honderden duizenden, misschien wel miljoenen. Proteomics staat nog in de kinderschoenen en wetenschappers komen nog niet verder dan het in kaart brengen van enige tientallen eiwitten in een specifieke groep cellen. Toch neemt de kennis over de rol die ze spelen bij de regulering van levensprocessen toe en wordt het, weliswaar in hele kleine stapjes, duidelijk wat er mis gaat bij mensen met een bepaalde aandoening. De komende jaren zullen wetenschappers steeds beter in staat zijn genen en eiwitten te identificeren die daarbij een cruciale rol spelen. Vooral de combinatie van het genoom (DNA-niveau) en transcriptie (vertalen van DNA-code) met de daadwerkelijke expressie van eiwitten in het lichaam zal beter inzicht geven in onderliggende ziekteprocessen. Dat helpt de medische wetenschap weer verder bij het vinden van betere methoden om aandoeningen op te sporen en te behandelen. Ook vanuit de klinische chemie is er een groeiende belangstelling voor proteomics en de bijbehorende nieuwe diagnostische mogelijkheden. Voor de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie (NVKC) zijn deze ontwikkelingen aanleiding geweest voor de oprichting van een werkgroep proteomics.

Op 22 mei organiseerde deze werkgroep het eerste proteomics symposium met aandacht voor technische aspecten en klinische mogelijkheden.

Eiwitchip

De belangrijkste analysetechniek om eiwitten te bestuderen is de combinatie van gelelectroforese en massaspectrometrie. Bij de gelelectroforese worden de eiwitten gescheiden op basis van lading en massa. Hierbij ontstaan op de gel een aantal 'spots' die elk een fragment (één of meerdere eiwitten) van het totale monster vormen. Deze spots worden met behulp van de massaspectrometer geanalyseerd waarbij de eiwitten en peptiden kunnen worden gedetecteerd en geïdentificeerd op basis van het massaspectrum, dat voor elk eiwit of eiwitmengsel uniek is. In feite is deze techniek om eiwitten te analyseren niet nieuw. Wel nieuw is het gebruik van een eiwitschip voor de zuiveringsstap. Dat heeft geleid tot een doorbraak in de analyse van complexe biologische materialen zoals bloed of andere lichaamsvloeistoffen. Met zo'n chip worden de eiwitten geïsoleerd uit het biologische materiaal door ze te binden aan specifieke antilichamen of receptoren op het oppervlak van de chip. Alle niet-gebonden (en storende) compo-





Het DNA in de cel bevat de code voor synthese en werking van eiwitten, die in het lichaam de levensprocessen aansturen en reguleren.

nenten worden weggewassen en de gebonden eiwitten worden vervolgens met behulp van laserpulsen van het chipoppervlak losgemaakt (Surface Enhanced Laser Desorption/Ionisation ofwel SELDI). Daarna vinden analyse en detectie plaats met behulp van TOF-MS (Time-of-Flight Mass Spectrometry). Met de ontwikkeling van de eiwitchip en SELDI-TOF-MS is een *high-throughput* techniek beschikbaar gekomen voor het opnemen van eiwitprofielen in bijvoorbeeld bloed of serum. De resulterende massaspectra worden niet zo zeer gebruikt om de eiwitten te identificeren, maar eerder om het verkregen profiel, een fingerprint van het onderzochte bloed- of serummonster, te beoordelen.

Door het serum van een groot aantal gezonde personen te vergelijken met het serum van patiënten is het mogelijk gezonde profielen en patiëntenprofielen van elkaar te onderscheiden op basis van bepaalde piekarakteristieken in de eiwitprofielen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van geavanceerde statistische methoden en databanken van eiwitspectra en eiwitprofielen van allerlei lichaamsmaterialen afkomstig van gezonde en zieke mensen. Voor de verwerking

en analyse van eiwitspectra schiet de bioinformatica te hulp. Binnen deze discipline worden methoden ontwikkeld om de enorme datastromen die binnen het proteomics onderzoek worden gegenereerd te kanaliseren en te vertalen naar bruikbare resultaten in de vorm van diagnose, prognose en behandeling. Zonder deze vertaalslag is proteomics onbruikbaar voor de dagelijkse praktijk. Het vergt wel zorgvuldig verzamelen en documenteren van lichaamsmaterialen afkomstig van gezonde en zieke mensen en een systematische opslag van gemeten eiwitprofielen in universele databanken.

Vroegdiagnostiek

Er zijn onlangs enkele wetenschappelijke publicaties verschenen over het gebruik van SELDI-TOF-MS in combinatie met bioinformatica voor de opsporing van nieuwe biomarkers op basis van eiwitprofielen in bloed en serum. Met name voor vroegdiagnostiek blijken deze eiwitmarkers de traditionele diagnostiek sterk te verbeteren. Wetenschappers van Johns Hopkins Medical Institutions (Baltimore, USA) deden succesvol onderzoek naar eiwitmarkers om in serum borstkanker en eierstokkanker op te sporen. Door de serumeiwitprofielen van gezonde en zieke vrouwen te vergelijken, ontdekten ze patronen en eiwitten die karakteristiek zijn voor de tumor en daarmee goede biomarkers om de tumor aan te tonen.

Eiwitprofiel in bloed verradert ziektes in lichaam

De resultaten met de nieuwe eiwitmarkers zijn vergeleken met die van klassieke serummarkers zoals CA125 voor eierstokkanker en CA15.3 voor borstkanker. De conclusie is dat met de nieuwe biomarkers specificiteit en gevoeligheid aanzienlijk kunnen worden verbeterd en dat de nieuwe markers met name geschikt zijn voor vroegtijdige opsporing. Ofschoon deze biomarkers zeker nog verder moeten worden gevalideerd om de kans op valspositieve en valsnegatieve uitslagen zo klein mogelijk te maken, zijn de eerste resultaten zeer bemoedigend. Ook studies naar nieuwe, *proteomics-based* biomarkers voor andere tumoren of in andere lichaamstoffen dan serum zijn in volle gang. De onderzoekspraktijk leert dat proteomics zich snel ontwikkelt en dat het nieuwe mogelijkheden biedt voor met name de vroegdiagnostiek. Ofschoon deskundigen zeker waarschuwen dat er nog veel onderzoek nodig is, lijkt de voorspelling dat proteomics technieken zich binnen nu en tien jaar een plaats hebben veroverd in het klinisch chemisch laboratorium gerechtvaardigd. Sommigen spreken zelfs van een ophanden zijnde revolutie in de laboratoriumanalyse van lichaamsmaterialen. ●

Marian van Opstal

Bronnen

- Proteomics in de klinische chemie, symposium 22 mei 2003 (www.nvkc.nl)
- Proteomics: een veelbelovende ontwikkeling met kansen voor de klinische chemie, J.M.G. Bonfrer, Ned Tijdschr Klin Chem 2002, 27, p 278
- Proteomics: het in kaart brengen van alle humane eiwitten, P.H. Reitsma en Ch.G. de Koster, NTVG, 27, juli 2003
- Proteomic approaches to tumor marker discovery; identification of biomarkers for ovarium cancer, A.J. Rai et al., Arch Pathol Lab Med, December 2002, p 1518
- Proteomics and bioinformatics approaches for identification of serum biomarkers to detect breast cancer, D.W. Chan et al, Clinical Chemistry, 48:8, 2002, p 1296