



ADVIES VAN DE HOGE GEZONDHEIDSRAAD nr. 9477

Stand van 'omics'-technologieën en hun klinische toepassing

In this scientific advisory report on public health policy, the Superior Health Council of Belgium provides the current state of art of “Omics” technologies for Belgian citizens.

This report aims at providing citizens, health care workers and policy makers with specific recommendations on the use and implementation of “omics technologies” in health care.

Versie gevalideerd op het College van
6 januari 2021¹

BEKNOPTE SAMENVATTING

De eerste (1986) 'omics'-technologie was 'genomics' of genomica, waarmee de studie van het gehele menselijke genoom wordt bedoeld, samen met de technologieën die daarvoor gebruikt werden. Kort na de introductie van deze term ontstond in het kielzog van genomics een hele reeks 'omics'-disciplines, zoals 'transcriptomics' en 'proteomics'.

Na dertig jaar omics-onderzoek in België presenteert de HGR een evaluatie van de huidige stand van zaken met betrekking tot de verschillende 'omics'-technologieën. Verder wordt in dit rapport beschreven in hoeverre deze technologieën op weg zijn naar klinische toepassing in zowel een curatieve als een preventieve omgeving. In de curatieve gezondheidszorg kunnen omics een rol spelen bij de diagnose en behandeling, terwijl in de preventie omics gebruikt kunnen worden voor screeningdoeleinden, die uiteindelijk kunnen leiden tot een zekere mate van uitroeiing van door het milieu veroorzaakte ziekten.

Verschillende Belgische experts hebben hun kennis en expertise gebundeld om de stand van zaken in de verschillende 'omics'-domeinen in beeld te brengen: de technische mogelijkheden, de haalbaarheid van een praktisch gebruik en het verdere onderzoek dat nodig is om de oorsprong van de ziekte te ontrafelen. Per 'omics'-techniek wordt een definitie en beschrijving gegeven, een stand van de techniek met betrekking tot de technische mogelijkheden, een voorbeeld van klinische toepassingen en tot slot de toekomstperspectieven. De volgende omics-technieken worden besproken: genomics, transcriptomics, epigenomics, proteomics, metabolomics, microbiomics, exposomics, lipidomics en glycomics.

Deze 'omics'-technologieën resulteren in enorme hoeveelheden gegevens. Data van een individuele omics-technologie genereren al complexe gegevens met betrekking tot de menselijke gezondheid en het milieu. Een volgend niveau is echter het combineren en integreren van gegevens uit verschillende omics-analyses. Het is duidelijk dat complexe technologieën voor het

¹ De Raad behoudt zich het recht voor om in dit document op elk moment kleine typografische verbeteringen aan te brengen. Verbeteringen die de betekenis wijzigen, worden echter automatisch in een erratum opgenomen. In dergelijk geval wordt een nieuwe versie van het advies uitgebracht.

analyseren van 'big data' nodig zijn om inzicht en kennis te genereren over de preventie, diagnose en behandeling van een ziekte. Daarom wordt een update gegeven over big data en het mogelijke gebruik van AI-technieken volgens het overzicht van de omics-technieken.

De impact van omics-tests en de toepassing ervan raakt op de een of andere manier de grenzen van de huidige praktijk en de bestaande maatschappelijke en ethische normen. Ten eerste moet de vraag of een patiënt al dan niet een omics-analyse nodig heeft en er baat bij heeft, in een vroeg stadium van de diagnostische evaluatie worden gesteld. Als gevolg hiervan zullen huisartsen en medisch specialisten een belangrijke rol spelen bij de doorverwijzing van een patiënt voor een omics-consult. Ze zouden poortwachters moeten zijn en ze zouden de patiënten en hun families moeten begeleiden naar genetische diensten wanneer deze nodig zijn. Omics-laboratoria en -specialisten (bijv. genetici) moeten samen met andere medische specialisten en regelgevende overheidsinstanties garanderen dat de meest geschikte test wordt aangeboden en vergoed door de sociale zekerheid.

Ook moet worden besloten of en hoe deze diensten moeten worden vergoed. Er moet een nieuw model voor omics-diagnostiek en -adviesverlening worden ontwikkeld. Voor een betere en snellere interpretatie van de grote datasets die gepaard gaan met een (totale) omics-analyse zijn bio-informaticatools en -expertise nodig. Een nauwe samenwerking tussen klinici, genetische laboratoriumspecialisten, bio-informatici, klinische genetici en genetica- en omics-adviseurs is van cruciaal belang voor de introductie van omics-geneeskunde.

Deskundigen en beleidsmakers zullen moeten beslissen of en op welk moment voorspellende tests ten goede komen aan preventie, diagnose en behandeling. Gezien deze zeer omzichtige procedure is het opmerkelijk dat juist op dit delicate gebied commerciële bedrijven genetische tests aanbieden, meestal op het internet. Deze commerciële screenings zijn gericht op mensen zonder klinische klachten of symptomen. Op basis van de genetische profilering van het DNA van een individu geven zij gepersonaliseerde aanbevelingen op het vlak van levensstijl, wat in feite relatieve risicovoorspellingen zijn. Deze bedrijven wagen zich steeds meer aan diagnostiek en dragerschapstesten voor genetische ziekten.

Kwesties als de privacy, veiligheid en bescherming van genomische gegevens vormen een bijzondere uitdaging, vooral als deze gegevens deel gaan uitmaken van het elektronisch medisch dossier van een patiënt. Naast klinische informatie richt de gezondheidszorg zich steeds meer op de levensstijl en de omgeving. Het lezen en interpreteren van omics-data zal binnenkort dan ook een integraal onderdeel vormen van zorg, behandeling en preventie. Daarom formuleren we de volgende aanbevelingen:

1. Organiseer 'omics' in instituten
2. Ondersteun nationaal gecentraliseerde databanken
3. Schakel over op een andere visie op gegevensbescherming
4. Creëer nieuwe beroepen en verzorg opleidingen
5. Overweeg screening
6. Recht en verzekering
7. Promoot preventie

Sleutelwoorden en MeSH descriptor terms²

MeSH terms*	Keywords	Sleutelwoorden	Mots clés	Schlüsselwörter
-	omics technologies	omics technologieën	technologies omics	"-omik"-Technologien
-	disease prevention	ziektepreventie	prévention des maladies	Krankheitsprävention
-	disease diagnosis	ziektediagnose	diagnostic des maladies	Krankheitsdiagnose
-	disease treatment	ziektebehandeling	traitement des maladies	Krankheitsbehandlung
'genomics'	genomics	genomica	génomique	Genomik
'epigenomics'	epigenomics	epigenomica	épigénomique	Epigenomik
'transcriptome'	transcriptomics	transcriptomica	transcriptomique	Transkriptomik
'proteomics'	proteomics	proteomica	protéomique	Proteomik
'glycomics'	glycomics	glycomica	glycomique	Glykomik
'metabolomics'	metabolomics	metabolomica	métabolomique	Metabolomik
'lipidomics'	lipidomics	lipidomica	lipidomique	Lipidomik
'microbiome'	microbiomics	microbiomica	microbiomique	Mikrobiomik
'exposome'	exposomics	exposomica	exposomique	Exposomik
'big data'	big data	big data	big data	Big Data
'artificial intelligence'	artificial intelligence	artificiële intelligentie	intelligence artificielle	künstliche Intelligenz
'ethics'	ethical constraints	ethische beperkingen	contraintes éthiques	ethische Einschränkungen
-	legal constraints	legale beperkingen	contraintes juridiques	gesetzliche Einschränkungen

MeSH (Medical Subject Headings) is the NLM (National Library of Medicine) controlled vocabulary thesaurus used for indexing articles for PubMed <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>

² De Raad wenst te verduidelijken dat de MeSH-termen en sleutelwoorden worden gebruikt voor referentiedoeleinden en een snelle definitie van de scope van het advies. Voor nadere inlichtingen kunt u het hoofdstuk "methodologie" raadplegen.

INHOUDSTAFEL

I.	INLEIDING EN PROBLEMATIEK.....	8
II.	METHODOLOGIE	10
III.	UITWERKING EN ARGUMENTATIE.....	10
	1. Genomics	10
	2. Epigenomics.....	14
	3 Transcriptomics	18
	4. Proteomics	22
	5. Glycomics.....	26
	6. Metabolomics	30
	7. Lipidomics	33
	8. Microbiomics	35
	9. Exposomics.....	38
	10. Big data en artificiële intelligentie	43
	11. Ethische en wettelijke beperkingen	50
IV.	CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN: medische, ethische en maatschappelijke uitdagingen	53
	1. Organiseren van 'omics'-zorgverlening in klinische expertisecentra	55
	2. Ondersteunen van nationaal gecentraliseerde databanken.....	55
	3. Overschakelen op een andere visie op gegevensbescherming.....	56
	4. Creëren van nieuwe beroepen en verstrekken van opleidingen	56
	5. Overwegen van screening.....	57
	6. Recht en verzekering	57
	7. Bevorderen van de bepaling van het exposoom en de preventie	58
V.	REFERENTIES.....	59
VI.	SAMENSTELLING VAN DE WERKGROEP	71

AFKORTINGEN

AI	<i>Artificiële intelligentie</i>
APTS	8-aminopyreen-1,3,6-trisulfonzuur
AUC	'Area Under the Curve', zone onder de curve
BCI's	'Brain-Computer Interfaces', brein-computer interface
BMI	'Body Mass Index', lichaamsmassa-index
CA	'Carbohydrate Antigens', koolhydraatantigeen
CAR	'Chimeric Antigen Receptor', chimerische antigeenreceptor
CD	'Crohn's Disease', ziekte van Crohn
cDNA	'Complementary DNA', complementair DNA
CEA	'Carcino Embryonic Antigen', Carcino-embryonaal antigeen
CE-LIF	'Capillary Electrophoresis-Laser-induced Fluorescence', capillaire elektroforese-lasergeïnduceerde fluorescentie
CHEAR	'Children's Health Exposure Analysis Resource', middel voor de analyse van de blootstelling van kinderen aan gezondheidsrisico's
CITE-sequencing	'Cellular Indexing of Transcriptomes and Epitopes by Sequencing', cellulaire indexering van transcriptomen en epitopen door middel van sequencing
CRC	'colorectal cancer', darmkanker
CRISPR	'Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats', geclusterde regelmatig onderbroken korte palindromische herhalingen
CRP	'C-reactive protein', C-reactief eiwit
CVD	'Cardiovascular Diseases', cardiovasculaire aandoening
CWL	'Common Workflow Language', gemeenschappelijke workflowtaal
dbGaP	'Database of Genotypes and Phenotypes', database van genotypen en fenotypen
DNA	'Desoxyribonucleic Acid', desoxyribonucleïnezuur
DNN	'Deep Neural Network', diep neurale netwerk
DOHAD	'Developmental Origin of Health And Disease', ontwikkelingsoorsprong van gezondheid en ziekte
DTC	'Direct-to-consumer', rechtstreeks naar de consument
EGA	'European Genome-phenome Archive', Europees genoom-fenomeenarchief
EHRs	'Electronic Health Records', elektronische medische dossiers
EMA	'Ecological Momentary Assessment', ecologische kortetermijnbeoordeling
EOSC	'European Open Science Cloud', Europese open wetenschapswolk
EPHOR	'Exposome Project for Health and Occupational Research', exposoomproject voor gezondheids- en beroeps onderzoek
EWAS	'Epigenome-Wide Association Studies', epigenoombrede associatiestudies
EXHES	'European Exposure and Health Examination Survey', Europees blootstellings- en gezondheids onderzoek
FAIR	'Findable, Accessible, Interoperable and Reusable', vindbaar, toegankelijk, interoperabel en herbruikbaar
FEV ₁	'Forced Expiratory Volume in one second', geforceerd expiratoir volume in één seconde

FISSEQ	'Fluorescent in situ sequencing', fluorescerende in situ sequentiebepaling
FLEHS	'Flemish Environment and Health Surveys', Vlaamse milieu- en gezondheidsenquêtes
FP7	'Framework Programme 7', kaderprogramma 7
GDPR	'General Data Protection Regulation', Algemene Verordening Gegevensbescherming (AVG)
GEWAS	'Genome- and Environment-wide Association Studies', genoom- en milieubrede associatiestudies
GEWIS	'Genome- and Environment-wide Interaction Studies', genoom- en milieubrede interactiestudies
G(L)C-MS	'Gas-(Liquid) Chromatography-Mass Spectrometry', gas- (vloeistof)chromatografie-massaspectrometrie
GPUs	'Graphical Processing Units', grafische verwerkingseenheden
GTEx	'Genotype-Tissue Expression Project', genotypeweefsel expressieproject
GWAS	'Genome-Wide Association Studies', genoombrede associatiestudies
HCC	'Hepato Cellular Carcinoma', hepatocellulair carcinoom
HD	'Huntington's Disease', ziekte van Huntington
HEALS	'Health and Environment-wide Associations based on Large Population Surveys', gezondheids- en milieubewuste verenigingen op basis van grote bevolkingsonderzoeken
HELIX	'Human Early-Life Exposome', menselijk vroegtijdig exposoom
HER2	'Human Epidermal Growth Factor receptor 2', humane epidermale groeifactorreceptor 2
HILIC	'Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography', hydrofiele interactie vloeistofchromatografie
HPC	'High-Performance Computing', krachtige computers
HPLC	'High-Performance Liquid Chromatography', krachtige vloeistofchromatografie
HPP	'Human Proteome Project', menselijk proteoomproject
HR	'Hormone Receptor', hormoonreceptor
HUPO	'Human Proteome Organization', menselijk proteoomorganisatie
IARC	'International Agency for Research on Cancer', Internationaal agentschap voor kankeronderzoek
ILS	'International Lipidomics Society'
iPOP	'integrative Personal Omics Profiling', integratieve persoonlijke omics-profilering
LC	'Liquid Chromatography', vloeistofchromatografie
LIF	'Laser-Induced Fluorescence', lasergeïnduceerde fluorescentie
MALDI-TOF	'Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization – Time of Flight mass spectrometry', Matrix-ondersteunde laserdesorptie-ionisatie – Time-of-flight massaspectrometrie
MRC	'Medical Research Council', Britse medische onderzoeksraad
mRNA	'Messenger Ribonucleic Acid', boodschapper-ribonucleïnezuur
MS	'Mass Spectrometer', massaspectrometer
MSI	'Mass Spectrometry Imaging', massaspectrometrische beeldvorming
NCI	'National Cancer Institute', Amerikaans nationaal kankerinstituut

NGS	'Next-Generation Sequencing', volgende generatie sequencing
NHANES	'National Health and Nutrition Examination Survey', nationaal gezondheids- en voedingsonderzoek
NIEHS	'National Institute of Environmental Health Sciences', Amerikaans nationaal instituut voor milieugezondheidswetenschappen
NIH	'National Institutes of Health', Amerikaanse nationale gezondheidsinstellingen
NIPT	'Non-Invasive Prenatal Test', niet-invasieve prenatale test
NIHR	'National Institute for Health Research', Brits nationaal instituut voor gezondheidsonderzoek
NMC	'Netherlands Metabolomics Centre'
NMR	'Nuclear Magnetic Resonance', nucleaire magnetische resonantie
PBPK	'Physiologically Based Pharmacokinetic', fysiologisch gebaseerd farmacokinetisch product
PIH	Antwerps Provinciaal Instituut voor Hygiëne
PM _{2.5}	fijne deeltjes met een diameter van 2,5 µm of minder
QMP	'Quantitative Microbiome Profiling', kwantitatieve microbiomprofieling
RIZIV/INAMI	Rijksinstituut voor ziekte- en invaliditeitsverzekering/Institut national d'assurance maladie-invalidité
RNA	'Ribonucleic Acid', ribonucleïnezuur
ROR	'Risk Of Recurrence', risico op herhaling
RS	'Recurrence Score', herhalingscore
RT-PCR	'Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction', omgekeerde transcriptie-polymerasekettingreactie
RT-qPCR	'Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction', omgekeerde transcriptie kwantitatieve polymerasekettingreactie
Seq-FISH	'Sequential Fluorescence In Situ Hybridization', sequentiële fluorescentie in-situ hybridisatie
HGR	Hoge Gezondheidsraad
SMRT	'Single Molecule Real-Time', enkele molecule in real time
SNPs	'Single-Nucleotide Polymorphisms', enkel-nucleotide polymorfismen
TCGA	'The Cancer Genome Atlas', de kankergenoomatlas
TCR	'Transcription-Coupled Repair', transcriptiegekoppelde reparatie
VIB	Vlaams Instituut voor Biotechnologie
VSC	Vlaams Supercomputer Centrum
WES	'Whole Exome Sequencing', volledige exoom-sequencing
WGS	'Whole Genome Sequencing', volledige genoom-sequencing

I. INLEIDING EN PROBLEMATIEK

De eerste 'omics'-technologie was 'genomics'. Hiermee wordt de studie van het gehele menselijke genoom bedoeld, samen met de technologieën die daarvoor gebruikt werden. De term is afgeleid van 'genoom' en werd in 1986 door de geneticus Thomas H. Roderick (Jackson Laboratorium) gelanceerd tijdens een congres over de beoordeling van het menselijk genoom. Na een congresdag ging hij met Frank Ruddle (Yale University) en Victor McKusick (Johns Hopkins University) naar een lokale Mc Donald's om te overleggen over de oprichting van een nieuw wetenschappelijk tijdschrift. Tussen het diner en een paar glazen door dachten ze na over een titel. Het voorstel van Roderick: 'Genomics'. En dat is vandaag nog steeds de naam van het tijdschrift dat ze toen begonnen.

Kort na de introductie van deze term ontstond in het kielzog van genomics een hele reeks 'omics'-disciplines, zoals 'transcriptomics' en 'proteomics'. Een deel van de genetische informatie van de cellen wordt gebruikt voor de productie van eiwitten. Tijdens een eerste fase - transcriptie - wordt de DNA-code (desoxyribonucleïnezuur) omgezet in mRNA (boodschapper-ribonucleïnezuur). Dit mRNA bindt zich vervolgens aan de ribosomen, waarna het mRNA wordt uitgelezen voor de vorming van eiwitten. Deze tweede fase staat bekend als de 'translatie'. Transcriptie en translatie maken samen deel uit van hetzelfde proces van 'genexpressie'. Er zijn ongeveer 21.000 verschillende menselijke genen die dit mechanisme gebruiken om te coderen voor meer dan 100.000 verschillende eiwitten.

In 'transcriptomics' wordt mRNA geïdentificeerd en gekwantificeerd om alle genen die tot expressie zijn gekomen te beoordelen. In 'proteomics' worden alle eiwitten bestudeerd - het proteoom - die door de cellen zijn geproduceerd, inclusief hun niveau en toestand. Binnen deze onderzoeksdomeinen worden genexpressie en eiwitprofielen van cellen die door een pathologie worden getroffen, vergeleken met gezonde cellen. Dit onderzoek leidt al tot een enorme hoeveelheid informatie over ziektemechanismen en genetische, moleculaire en biologische processen. Deze kennis is van belang voor de preventie, diagnose en behandeling van ziekten.

In tegenstelling tot het genoom verschillen de genexpressie en het proteoom van cel tot cel. Elk celtype gebruikt slechts een beperkt deel van de beschikbare genetische informatie. Huidcellen gebruiken bijvoorbeeld andere genetische informatie dan longcellen. Bovendien veranderen genexpressie en eiwitprofielen voortdurend tijdens de normale levenscyclus van een cel, onder invloed van o.a. veranderingen in het celmilieu. Dit wordt weerspiegeld in het metabool en lipidoom, de verzameling van alle in water oplosbare en onoplosbare metabolieten, die fungeren als bouwstenen en substraten om cellulaire processen aan te sturen.

Dit laatste aspect wordt ook specifiek bestudeerd op het gebied van 'toxicogenomics'. Dit onderzoeksdomein onderzoekt de blootstelling aan omgevingsfactoren en toxische stoffen op genen en hun expressie, om zo informatief te zijn voor toxicologische werkingsmechanismen. De blootstelling aan stoffen kan vrij goed beheerd en gekarakteriseerd worden met *in-vitro* experimenten. Bij de mens blijft dit echter zeer moeilijk. De blootstelling volgt verschillende routes: via de longen, de huid, de maag en het darmkanaal. Het kan ook een aantal verschillende oorzaken hebben, zoals beroep, dieet of algemene leefomstandigheden. Mensen worden dagelijks blootgesteld aan duizenden stoffen. Deze werden tot nu toe niet allemaal geïdentificeerd en gekarakteriseerd. Op dit moment kunnen we slechts een klein percentage daarvan meten.

Bovendien kan de blootstelling aan stoffen uit het milieu tijdens de levensduur radicaal veranderen. De luchtkwaliteit verandert met de seizoenen en met de wisselende weersomstandigheden. Als gevolg van de industrialisatie is de luchtkwaliteit in de loop van de twintigste eeuw drastisch verslechterd, met alle negatieve gevolgen van dien voor de menselijke gezondheid. Maar tegelijkertijd is de hygiëne en het voedsel verbeterd, wat een positieve invloed heeft op de kwaliteit van het leven en de levensverwachting van de bevolking.

Dit alles maakt het moeilijk om de integrale blootstelling tijdens het leven van de wieg tot het graf te kwantificeren. 'Omics'-technologieën zouden het mogelijk kunnen maken om de individuele blootstelling gedurende de gehele levensduur te beschrijven. Dit gebeurt in het domein 'exposomics'. Het exposoom is een term die in 2005 voorgesteld werd door Christopher Wild, directeur van het Internationaal Agentschap voor Kankeronderzoek ('International Agency for Research on Cancer', IARC). De technologische complicaties bij de beoordeling van het exposoom zijn inmiddels niet meer onoverkomelijk: in de toekomst zal het doenbaar worden om te kijken naar de gevolgen van blootstelling voor de ontwikkeling van een ziekte.

Met de succesvolle karakterisering van het individuele exposoom en genoom kunnen zowel omgevingsfactoren als genetische determinanten van de ziekte worden verzameld om de interacties tussen het gen en het milieu te bestuderen. In studies als deze ('Genome- en Environment-wide Association Studies' (GEWAS), genoom- en milieubrede associatiestudies) kan worden vastgesteld of het effect van de genen op de gezondheid wordt beïnvloed door de omgeving of het dieet - of juist andersom. Is de omgeving afhankelijk van een specifiek genetisch sterrenbeeld? Als we, zoals in het 'Human Genome Project', erin slagen om de gehele blootstelling tijdens het leven in kaart te brengen en vervolgens deze enorme hoeveelheid gegevens correct te verwerken en te interpreteren, zouden we te zijner tijd in staat moeten zijn om de oorzaken van de meeste ziekten te achterhalen.

De 'omics'-technologieën resulteren in enorme hoeveelheden gegevens. Data van een individuele omics-technologie (bv. genoom) genereren al complexe gegevens met betrekking tot de menselijke gezondheid en het milieu. Met de huidige stand van de techniek kunnen gegevens uit verschillende omics-resultaten (bijv. genoom, epigenoom, transcriptoom, proteoom) echter worden gecombineerd en geïntegreerd. Het is duidelijk dat complexe technologieën voor het analyseren van 'big data' nodig zijn om inzicht en kennis te genereren over de preventie, diagnose en behandeling van een ziekte. Hierbij komen vragen over de bescherming van persoonsgegevens en privacy direct naar voren.

Na dertig jaar omics-onderzoek in België wil de HGR graag een evaluatie van de huidige stand van zaken met betrekking tot de verschillende 'omics'-technologieën voorleggen. In dit verslag zal ook worden beschreven in hoeverre deze technologieën geëvolueerd zijn richting klinische toepassing, waarbij niet wordt vergeten dat onze omgeving en blootstelling invloed hebben op de omics-resultaten en dat deze gegevens kunnen helpen om de onderliggende mechanismen en oorzaken van ziekten op te helderen³. Uiteindelijk zouden deze gegevens en inzichten kunnen leiden tot een zekere mate van uitroeiing van door het milieu veroorzaakte ziekten.

Verschillende Belgische experts hebben hun kennis en expertise gebundeld om de stand van zaken in de verschillende 'omics'-domeinen in kaart te brengen: de technische mogelijkheden, de haalbaarheid van een praktisch gebruik en het verdere onderzoek dat nodig is om de oorsprong van een ziekte te ontrafelen. Voor de klinische toepassing hebben we ons beperkt tot de selectie van een belangrijk of illustratief klinisch voorbeeld, in plaats van voor volledigheid te gaan. Op het einde van het document wordt een blik in de toekomst geworpen en worden enkele beleidsaanbevelingen geformuleerd die de gunstige positie van België in de 'omics'-onderzoeksdomeinen zouden kunnen ondersteunen.

³ Vineis et al., 2013.

II. METHODOLOGIE

Na analyse van het projectvoorstel hebben het College, de voorzitter van het domein chemische agentia en de voorzitter van de ad-hocwerkgroep de nodige expertises bepaald. Op basis hiervan werd een ad-hocwerkgroep opgericht met deskundigen in de verschillende omics-gebieden. De experts van de werkgroep hebben een algemene belangenverklaring en een ad-hocverklaring ingevuld en de Commissie voor Deontologie heeft het potentieel risico op belangenconflicten beoordeeld.

Het advies berust op een overzicht van de wetenschappelijke literatuur, zowel uit wetenschappelijke tijdschriften als uit rapporten van nationale en internationale organisaties die in deze materie bevoegd zijn (*peer-reviewed*), alsook op het oordeel van de experts.

Na goedkeuring van het advies door de werkgroep en door de permanente werkgroep chemische agentia werd het advies tenslotte gevalideerd door het College.

III. UITWERKING EN ARGUMENTATIE

1. Genomics

Definitie en beschrijving⁴

DNA draagt de genetische instructies die worden gebruikt bij de groei, de ontwikkeling, de werking en de voortplanting van bijna alle bekende levende organismen en virussen. DNA bestaat uit twee lange strengen die in de vorm van een dubbele helix met elkaar vervlochten zijn. Het genoom is de totale hoeveelheid DNA, de som van alle genen van een individueel organisme. Een gen is een sequentie van nucleotiden in DNA (of RNA (ribonucleïnezuur)) dat codeert voor een molecuul dat een functie heeft. Nucleotiden zijn de bio-organische bouwstenen voor DNA en RNA. Het menselijk genoom bestaat uit ongeveer 21.000 genen. De term genoom verwijst over het algemeen naar de genetische informatie die het bevat⁵.

DNA is niet één grote molecule maar is opgedeeld in stukjes: de 'chromosomen'. Genen die de codes voor de productie van eiwitten bevatten, worden 'coderend DNA' genoemd. Daarnaast bevat het genoom ook 'niet-coderende' DNA-sequenties. Deze coderen geen eiwitsequenties, maar bevatten wel genetische informatie. Aanvankelijk werd de functie van deze grote hoeveelheid niet-coderende DNA-sequenties in het genoom niet begrepen. Het werd daarom 'junk DNA' genoemd. We weten nu dat dit helemaal geen 'junk' is. Niet-coderende DNA-sequenties spelen een belangrijke rol bij het 'aan-' of 'uitzetten' van andere genen. Ze dragen ook bij tot het behoud van de delicate chromosoomstructuren⁶.

De genomen van mensen, fruitvliegen en tomaten hebben allemaal een aantal gemeenschappelijke genen en eigenschappen met elkaar gemeen. Maar, zoals men zich kan voorstellen, zijn de genomen van alle soorten verschillend. Naast genen die een soort definiëren, zijn er ook genen die alle individuen binnen een soort definiëren. Het genoom van het individu is de mix van het genoom van de vader en dat van de moeder. Elk individu herbergt dus twee volledige sets van chromosomen - twee volledige sets van genen een van elke ouder.

Afgezien van een identieke tweeling zijn alle individuen genetisch verschillend. Iedereen draagt ongeveer drie miljoen 'varianten' in vergelijking met niet-verwante andere individuen. Veel van deze varianten treffen we vrij vaak aan in de bevolking, andere zijn zeldzaam of zelfs uniek. Het genoom

⁴ Strachan & Read, 2018.

⁵ Strachan & Read, 2018.

⁶ Strachan & Read, 2018.

bepaalt niet alleen de kleur van de ogen, het codeert ook veel eigenschappen. Helaas bevat het ook varianten die leiden tot ziekten: deze worden 'ziekteverwekkende varianten' genoemd, die voorheen bekend stonden als 'ziekteverwekkende mutaties'⁷.

Geavanceerde technische mogelijkheden

'Massively Parallel Sequencing' (massale parallelle sequencing) of 'Next Generation Sequencing' (sequencing van de volgende generatie) (NGS) heeft het mogelijk gemaakt om volledige individuele genomen uit te lezen. High-throughput sequencing machines 'lezen' de inhoud van miljoenen kleine DNA-fragmenten, elk van ongeveer 100 tot 250 nucleotiden, parallel. Voor een dergelijke genomanalyse is de term 'genomics' bedacht. In 2000 heeft het Human Genome Project licht geworpen op de structuur van het gehele menselijke genoom. Sinds dit miljardenproject heeft de technologische vooruitgang ons binnen het bereik van het '1000 dollar genoom' gebracht, waardoor het gebruik van genomics voor nieuwe benaderingen in onderzoek en de klinische omgeving mogelijk is geworden. Het zal een voorspellende, nauwkeurige en gepersonaliseerde geneeskunde mogelijk maken. Met behulp van bio-informatica-hulpmiddelen wordt de informatie in een sequentie verzameld. Die sequentie kan vervolgens worden vergeleken met de referentiesequentie van het menselijk genoom die sinds 2000 voortdurend wordt bijgewerkt. Deze massale parallelle sequencingtechnologie wordt al op grote schaal toegepast in de genomische geneeskunde voor veel Mendeliaanse ziekten⁸⁹.

Hoewel er indrukwekkende vooruitgang is geboekt, moet worden erkend dat de huidige stand van de techniek nog steeds zijn grenzen heeft. Belangrijke vragen kunnen vandaag de dag worden beantwoord dankzij genoomsequencing, maar tegelijkertijd zijn er belangrijke hiaten. De genetische basis van een ziekte is vooral gericht op coderende regio's, waarbij gebruik wordt gemaakt van 'Whole Exome Sequencing' (WES). Een groot deel van het niet-coderende genoom is functioneel en kan genetische varianten bevatten die causaal gerelateerd zijn aan Mendeliaanse aandoeningen of die bijdragen tot complexe eigenschappen. Niet-coderende varianten die in toenemende mate worden gevonden door 'Whole Genome Sequencing' (WGS) kunnen de genexpressie of -functie beïnvloeden door middel van diverse functionele eenheden, waaronder ongetransleerde regio's, DNA-regulerende elementen en niet-coderende RNA's. De huidige uitdagingen voor de interpretatie van niet-coderende genetische varianten omvatten het identificeren van het ziekterelevante celtyp, het voorspellen en evalueren van de onderliggende mechanismen en het gebrek aan geschikte *in-vivo* modellen¹⁰.

Klinische toepassingen

De vooruitgang op het gebied van genomische technologieën en het begrip van de effecten van genomische varianten vergemakkelijken de overgang van genomica van onderzoek naar klinische zorg. Genomische geneeskunde, of het gebruik van de genomische informatie van een individu als onderdeel van de klinische zorg, wordt steeds vaker toegepast in de routinepraktijk. Hieronder vindt u vier voorbeelden van klinische toepassingen van genomics¹¹¹²¹³¹⁴.

⁷ Strachan & Read, 2018.

⁸ Shendure et al., 2017.

⁹ Turro et al., 2020.

¹⁰ French & Edwards, 2020.

¹¹ Manolio et al., 2019.

¹² Green et al., 2020.

¹³ Strachan & Read, 2018.

¹⁴ <https://ec.europa.eu/digital-single-market/en/european-1-million-genomes-initiative>

Geval 1 - Zeldzame ziekten

Een van de gebieden waarop genomics zijn waarde bewijst, is dat van zeldzame en erfelijke ziekten. Centra voor menselijke genetica zijn bezig met de introductie van genomics in de kliniek. De technologie wordt gebruikt voor de diagnose van patiënten met een mogelijk erfelijke ziekteoorzaak. Een daarvan is epilepsie, waarvan het ziektebeeld van de patiënt geen uitsluitel geeft over de vraag of er al dan niet sprake is van een genetische variant van de betreffende ziekte. Wanneer er daadwerkelijk een genetische oorzaak is, is deze mogelijk gekoppeld aan een van de tientallen genen. Genoomonderzoek, hier toegepast als de massale parallelle sequentie bepaling van alle bekende epilepsiegenen, kan duidelijk maken of er een genetische oorzaak is en zo ja, welk gen defect is. Deze informatie beëindigt een diagnostische reis en kan direct wijzen op de juiste therapie. Bij genetische ziekten, of het nu gaat om epilepsie, verstandelijke beperkingen, neuromusculaire aandoeningen, doofheid, blindheid, cardiomyopathieën, nefropathieën, primaire immuundeficiënties of andere ziekten, staat er nog een andere factor op het spel: wanneer de ouders weten dat hun kind een genetisch bevestigde erfelijke aandoening heeft, kunnen ze rekening houden met deze informatie bij hun beslissing om andere kinderen te krijgen.

Geval 2 - Kanker

Een ander toepassingsgebied voor massale parallelle sequencingtechnologie is gedetailleerde tumorprofilering. Kanker begint met een klein genetisch defect dat uiteindelijk leidt tot een ontspoorde cel en dus tot de ontwikkeling van een tumor, vaak gevolgd door uitzaaiingen. De genomics-locatie waar dit probleem zich voordoet, bepaalt mede hoe de kanker zich zal ontwikkelen. De genmutatie zorgt ervoor dat de cel abnormale eiwitten produceert of genen activeert die normaal gesproken tot zwijgen worden gebracht. Het aanvankelijke kleine defect verspreidt zich, waardoor de mutatiebelasting kan toenemen. Het resultaat is enorme schade in het DNA van de tumor. De celcyclus is vervormd en de tumor ontwikkelt zich door ongecontroleerde - en vaak oncontroleerbare - celdelingen. Genomics wordt gebruikt om dit proces te begrijpen en in kaart te brengen.

Kennis over de genetische oorzaken van de boosdoener leidt ook tot therapieën op maat voor een specifiek genetisch defect, en dus voor een specifieke patiënt: de precisie medicijnen. Bij precisie medicijnen kunnen specifieke geneesmiddelen, zoals bijvoorbeeld nieuw ontwikkelde gerichte antilichamen, worden toegediend. Ze vangen de abnormale eiwitten op of blokkeren de cellulaire receptoren die reageren op afwijkende groeisignalen. Dit remt de verdere ontwikkeling van tumorcellen of zorgt ervoor dat ze afsterven. Precisie geneeskunde, op maat van de individuele patiënt, werkt meestal voor enkele tientallen procenten van de patiënten; het werkt bijna nooit voor alle patiënten. Toch heeft deze aanpak, waarbij massale parallelle genoomsequencing een vitale rol speelt, al veel levens gered van patiënten met leukemie en vaste tumoren.

Door massale parallelle sequencing kunnen ook kleine hoeveelheden tumor-DNA worden opgespoord, bijvoorbeeld in het bloed van de patiënt. Detectie van tumor-DNA in het bloed, ook wel vloeibare biopsies genoemd, zal in toenemende mate worden gebruikt voor het monitoren van tumortherapie, maar biedt het grootste potentieel voor vroegtijdige opsporing van kanker, in een stadium waarin de mutatiebelasting van de ziekte nog beperkt is. Men zou zich bijvoorbeeld kunnen voorstellen dat dergelijke tests elk jaar worden uitgevoerd. Aangezien kanker uiteindelijk een aanzienlijk percentage van de totale bevolking treft, vertegenwoordigen deze toepassingen een gigantische markt. In die zin zou genoomsequencing mogelijk algemeen kunnen worden toegepast voor toekomstige kankerscreeningprogramma's.

Geval 3 - Multifactoriële aandoeningen

Vaak voorkomende ziekten zoals diabetes, dementie en hart- en vaatziekten zijn zelden het gevolg van één enkele pathogene mutatie, uitgezonderd de zeldzame families. Een overvloed aan veel

voorkomende en zeldzame genetische varianten maken een individu samen gevoeliger voor een bepaalde ziekte. Hoe meer 'risicogenen' er bij een patiënt betrokken zijn, hoe groter het risico dat de ziekte zich ontwikkelt. De variabele belasting van genetische varianten is hier echter slechts één van de factoren die een rol spelen, naast factoren als levensstijl en omgeving - alsook pech. Vanuit dit oogpunt is kanker ook grotendeels een multifactoriële ziekte.

Het principe geldt eveneens voor 'normale' eigenschappen, zoals lichaamslengte en -gewicht, intelligentie of zelfs empathie. Voor de verschillende aandoeningen en kenmerken varieert de balans tussen genetische aanleg en levensstijl plus milieu (bijv. exposoom). Zo is de genetische bijdrage aan de lichaamslengte groter dan aan het cholesterolgehalte, terwijl bipolaire ziekten en depressies een relatief sterke genetische component hebben. Het probleem op het gebied van voorspelling en preventie is dat de genetische aanleg bij multifactoriële ziekten geen zekerheid biedt om de ziekte te krijgen. Het kan 'alleen' worden vertaald in een hogere of lagere risicoscore. Dergelijke scores worden berekend op basis van de bijdrage van de genetische varianten aan de aanleg voor een bepaalde ziekte. Het spreekt voor zich dat een dergelijke score zeer afhankelijk is van de stand van de kennis en van de kracht van de genetische aanleg.

In het geval van erfelijke slapeloosheid werden bijvoorbeeld vierhonderd verschillende genen ontdekt die mogelijk betrokken zijn bij de aandoening. Er was een onderzoekspopulatie van een miljoen patiënten nodig om deze uitkomst te ontrafelen. Deze feiten relativiseren de waarde van de momenteel beschikbare Direct-to-Consumer tests: de huidige stand van de techniek laat nauwelijks het trekken van harde conclusies toe over multifactoriële ziekten in individuele gevallen. Genomics en de beschikbaarheid van sequentiegegevens van miljoenen individuen samen met hun klinische en leefstijlinformatie zullen ons weliswaar in staat stellen om de risicoscores nauwkeuriger te voorspellen. Het zal echter nog vijf tot tien jaar duren, voordat er nauwkeurige voorspellingen kunnen worden gedaan. Maar als we eenmaal in staat zijn om de betekenis van het hele genoom te doorgronden en de milieu- en levensstijlfactoren uitgebreid te catalogiseren, mogen we ervan uitgaan dat genomics ook nuttige toepassingen kunnen bieden voor de diagnose van multifactoriële ziekten.

Geval 4 - Niet-invasieve prenatale tests (NIPT)

Een van de recente doorbraken die volledig afhankelijk is van de mogelijkheid om massaal DNA te sequencen, is de mogelijkheid om DNA van de foetus in het bloed van de moeder op te sporen en te analyseren. De toepassing staat bekend als 'Non-Invasive Prenatal Testing' of NIPT. Technisch gezien is het intrinsiek verbonden met een totale genoomanalyse, aangezien geen enkele andere technologie foetaal DNA kan onderscheiden van moederlijk DNA. De placenta, waarvan de genetische samenstelling gelijk is aan die van het embryo, werpt minieme hoeveelheden DNA af in het moederlijke bloed. Door de relatieve hoeveelheid DNA die uit de verschillende chromosomen wordt afgeleid te kwantificeren, kunnen numerieke chromosoomafwijkingen bij de foetus worden opgespoord. Het bekendste voorbeeld is het syndroom van Down, dat wordt veroorzaakt door trisomie 21, de aanwezigheid van een extra chromosoom 21. Vandaag de dag is de resolutie ervan beperkt. Kleine varianten in het genoom blijven ongreepbaar. Verdere technologische verbeteringen maken het mogelijk steeds kleinere chromosoomafwijkingen of sequentievarianten op te sporen. De verwachting is dat uiteindelijk de volledige sequentie van de foetus met behulp van NIPT bepaald zal kunnen worden.

Toekomstperspectieven

De vooruitgang die er in de genomica geboekt wordt, is zonder meer snel en indrukwekkend te noemen. Dit brengt het risico met zich mee dat de tot nu toe behaalde resultaten worden overschat. Zo wordt vaak gesuggereerd dat het 'duizend dollar genoom' een sleutel is tot veel genomgerelateerde antwoorden. We mogen echter niet vergeten dat kennis meer vereist dan louter het lezen van een DNA-sequentie. Vervolgens moet de informatie immers ook daadwerkelijk

worden geïnterpreteerd. Bio-informatica en het modelleren van ziekten met behulp van cel- of diermodellen zullen daarbij een centrale rol spelen.

Genomics in Europa: '1+ Million Genomes'-initiatief

Dit initiatief, waartoe België onlangs is toegetreden, heeft tot doel om tegen 2022 toegang te hebben tot ten minste 1 miljoen gesequenteerde genomen in de EU. Genoomsequencing en -interpretatie en datakoppeling kunnen helpen bij het voorspellen, voorkomen en diagnosticeren van ziekten en directe behandelingen op basis van individuele genoomprofielen. De bevolking zou gebaat kunnen zijn bij het delen van genomische gegevens. Zoals hierboven geïllustreerd, kunnen verschillende ziektegebieden - zeldzame ziekten, kanker, veelvoorkomende complexe ziekten, maar ook infectieziekten - bijzonder veel baat hebben bij de genoomgeneeskunde. Er kunnen belangrijke voordelen voor de gezondheidszorg worden verwacht via een verbeterde preventie, dankzij de beschikbare genomische referentiegegevens voor screening en gepersonaliseerde geneeskunde. De Europese gezondheidsstelsels zullen waarschijnlijk baat hebben bij hogere ziektevoorspellingspercentages, eerdere diagnoses en het specifiek op individuen afstemmen van de therapieën¹⁵.

Genomics in de gezondheidszorg in België

Op dit moment bevindt België zich in de frontlinie van genomics in de gezondheidszorg. Voor zeldzame ziekten is een op genomics gebaseerde diagnose uitgerold in Belgische genetische centra. Ondanks een goede toegang tot de genomische geneeskunde moeten de pathogene varianten en de oorzakelijke genen voor meer dan de helft van de gevallen nog worden ontdekt. Kankeronderzoek, dat verricht wordt door academische en regionale laboratoria, is ook goed georganiseerd. De medisch specialisten zijn zich over het algemeen ter dege bewust van het potentieel en ook van de beperkingen van genomics voor hun patiënten. Zij weten in welke gevallen het testen wel of niet aangewezen is.

Een volgende belangrijke stap is de implementatie van WGS in de gezondheidszorg. In een recente studie in het Verenigd Koninkrijk werd WGS gebruikt in een nationaal gezondheidssysteem om de diagnose bij zeldzame ziekten te versnellen. Deze studie, gericht op pathogene varianten in de coderende en niet-coderende regio's van het genoom, toonde het klinisch nut aan van WGS voor diagnose en ontdekking in de reguliere gezondheidszorg¹⁶. Een uitgebreid begrip van de mechanismen en de impact van niet-coderende genetische variatie bij menselijke ziekten zal bijdragen tot toekomstige genetische diagnoses en therapeutische strategieën.

In het algemeen zou het, om genomics en andere omics-technieken in België te stimuleren, nuttig zijn om expertise te integreren waar gegevens, populaties, kennis en laboratoriumfaciliteiten geconcentreerd zijn. Een goede interactie tussen onderzoek en de kliniek is van essentieel belang voor de ontwikkeling van de genomische geneeskunde, terwijl de gecentraliseerde gezondheidszorg een vruchtbare omgeving biedt voor deskundige diagnostiek en klinische proeven. Centralisatie van de expertise zou ook de juiste inzet van omics-technieken in de meest geschikte gevallen kunnen garanderen en zou de burgers de voordelen van de genomische geneeskunde kunnen bieden.

2. Epigenomics

Definitie en beschrijving

Alle menselijke cellen bevatten dezelfde genetische informatie. Een zenuwcel in de hersenen bezit alle genen om er een neuron van te maken, maar bevat ook alle genetische informatie om een

¹⁵ <https://ec.europa.eu/digital-single-market/en/european-1-million-genomes-initiative>

¹⁶ Turro et al., 2020.

spiercel in het hart te bouwen. Toch zien beide celtypes er heel anders uit en gedragen ze zich heel anders. Dit is te wijten aan het vermogen van onze cellen om de activiteit van specifieke genen 'aan' of 'uit' te zetten. Onze cellen kunnen dus alleen de genetische informatie gebruiken die nodig is om hun eigen specifieke functie te vervullen. Dit 'aan- en uitzetten' van genen gebeurt dankzij een epigenetische schakelfunctie. Omdat het definieert welke specifieke genen worden geactiveerd, definieert het de celfunctie. Een belangrijk kenmerk van de epigenetische schakelaar is dat deze omkeerbaar is.

De term epigenetica beschrijft veranderingen in de genactiviteit die niet gecodeerd zijn in de DNA-sequentie zelf, maar die toch van de ene generatie op de andere kunnen worden doorgegeven. Het Griekse 'epi-' voor 'over' wijst op kenmerken die 'bovenop' de traditionele genetische basis voor vererving liggen. Epigenetische mechanismen voegen immers 'celtypegeheugen' toe, d.w.z. een extra laag van informatie bovenop de genetische informatie die gecodeerd is in ons DNA.

Er zijn verschillende epigenetische mechanismen waaronder DNA-methylatie, niet-coderende RNA en histon-modificaties. DNA-methylatie was de eerste die werd ontdekt en is tot op heden het best gekarakteriseerde epigenetische mechanisme met de meeste klinische relevantie.¹⁷ De naam 'methylatie' geeft aan hoe de schakelfunctie van dit mechanisme werkt. De normale genexpressie wordt geregeld door toevoeging of verwijdering van een methylgroep (CH₃) aan specifieke regio's van het genoom.

Een gen kan worden beschreven als een eenheid binnen de DNA-streng. Methylatie - het schakelen gebeurt in het promotorgebied van een gen, de plaats in de DNA-streng waar zo'n DNA-eenheid begint. DNA-methylatie speelt een vitale rol in het normaal functioneren van cellen, vooral in de ontwikkeling van ons lichaam. Voorbeelden hiervan zijn zwangerschap, kindertijd, puberteit en veroudering. Methylatie regelt bijvoorbeeld de ontwikkeling van niet-gespecialiseerde (pluripotente) stamcellen tot gespecialiseerde cellen zoals neuronen, zaadcellen of hartspiercellen tijdens de zwangerschap.

Het concept van 'Developmental Origin of Health And Disease' (DOHAD, ontwikkelingsoorsprong van gezondheid en ziekte) is verbonden met DNA-methylering. Een aspect van DOHAD is het idee dat: "wat er in de baarmoeder gebeurt, een leven lang aanhoudt". Als er iets in het methylatiemechanisme fout gaat, kan dit leiden tot een pathologie. DNA-methylatiepatronen zijn dynamisch omdat ze tijdens de normale ontwikkeling veranderen en zich ophopen bij het ouder worden. DNA-methylatiepatronen reageren ook op blootstelling aan het milieu als gevolg van de levensstijl of de leefomgeving. Deze milieublootstelling kan leiden tot pathologie.¹⁸ Een voorbeeld van blootstelling aan het milieu is roken of luchtvervuiling, wat leidt tot cumulatieve nadelige veranderingen in het DNA-methylatiepatroon.^{19,20}

Abnormale DNA-methylatiepatronen worden in vrijwel elk type kanker aangetroffen²¹. De verklaring hiervoor is dat veranderingen in de methylatie van DNA de expressie van genen die betrokken zijn bij de controle van de celgroei kunnen beïnvloeden. Dit kan op zijn beurt weer leiden tot bijvoorbeeld de vorming van een tumor: de celgroei is fout gegaan. Onderzoekers en klinici zoeken daarom naar methylatieveranderingen in het DNA gerelateerd aan kanker. Het kan hen helpen om beter te begrijpen hoe deze ziekte begint en zich ontwikkelt. Blootstelling aan het milieu kan ook

¹⁷ De andere bekende epigenetische mechanismen zijn histon-modificatie en -hermodellering en micro-RNA. Wat ze doen, hun onderliggende mechanisme en de biomedische verandering die ze oproepen, zijn slechts ten dele bekend. Dat helpt om te verklaren waarom hun potentiële rol in de klinische diagnostiek nog niet duidelijk is.

¹⁸ Pauwels et al., 2017a; Pauwels et al., 2017b; Pauwels et al., 2017c.

¹⁹ Joubert et al., 2016.

²⁰ Gruzjeva et al., 2019.

²¹ Herman & Baylin, 2003.

leiden tot de ontwikkeling van andere chronische of dodelijke ziekten, zoals neurologische aandoeningen.

Anderzijds kunnen epigenetische mechanismen ook een belangrijke rol spelen bij het overbrengen van schadelijke effecten van milieublootstellingen²². Het bestuderen van de blootstelling aan agentia die pathologische epigenetische veranderingen veroorzaken, kan helpen om de precieze reactie tussen blootstelling aan het milieu en gezondheid te ontrafelen. Deze onderzoekslijn kan ook helpen bij het identificeren van stoffen die in dit opzicht gevaarlijk zijn.

Naast inzicht in de ontwikkeling van de ziekte kunnen methylatieveranderingen ook een sleutel vormen tot een betere behandeling. DNA-methylatieveranderingen in de hersentumor van een patiënt kunnen bijvoorbeeld indicatief zijn voor de reactie van deze persoon op een specifieke therapie. DNA-methylatieverandering is een biomarker: 'een meetbare indicator van een bepaalde biologische toestand'. Onderzoekers hebben deze biomarker zowel voor diagnosedoeleinden gebruikt als voor het bepalen van het resultaat van een ziekte²³.

Ze zijn er ook in geslaagd om de celtypespecificiteit van de DNA-methylatie in hun voordeel te gebruiken. Een voorbeeld hiervan zijn DNA-methylatiepatronen die alleen in T-cellen aangetroffen worden. Dit is het type witte bloedcellen dat kan helpen om kankercellen te doden. Door het meten van het DNA-methylatieprofiel van een tumormonster kan worden geschat hoeveel T-cellen er in de tumor aanwezig zijn. Dit heeft belangrijke gevolgen voor de reactie van de tumor op specifieke therapieën²⁴.

DNA-methylatieveranderingen bij 350 geselecteerde chromosoomgebieden kunnen worden vastgesteld voor diagnostisch gebruik. Dit zogenaamde 'epigenetische kloksignatuur'-onderzoek wordt steeds vaker toegepast om iemands biologische leeftijd in te schatten ten opzichte van de chronologische leeftijd. Het toepassingsgebied omvat het vaststellen van de risico's van ziektegevoeligheid en het monitoren van gezonde verouderingsstrategieën²⁵.

Epigenetische veranderingen zijn omkeerbaar, vanwege het vermogen van onze cellen om de activiteit van specifieke genen van 'aan' naar 'uit' te schakelen of vice versa. Onderzoekers proberen nu om DNA-methylatieveranderingen in verband met kanker terug te draaien door het toedienen van demethylerende medicatie^{26,27}. De diëtaire chemopreventie²⁸ of de genspecifieke epigenetische bewerking kan ook worden toegepast om ditzelfde doel²⁹ te bereiken.

Geavanceerde technische mogelijkheden

Al deze toepassingen vereisen nauwkeurige DNA-methylatiemetingen over het hele genoom. Inmiddels is er een breed scala aan technieken beschikbaar om dit te bereiken. Een optie is het gebruik van een microarray, een klein glasplaatje gevuld met korte DNA-sequenties (probes), die overeenkomen met de sequenties van de genomische locaties waar DNA-methylatie kan worden gemeten. De nieuwste microarrays bevatten meer dan 850.000 probes en maken het mogelijk om de methylatie van DNA over bijna het gehele genoom te meten.

De op sequencing gebaseerde aanpak maakt gebruik van antilichamen die zich specifiek binden aan gemethyleerd DNA. Hierdoor kunnen de gemethyleerde stukjes DNA uit een monster worden

²² Bakusic et al., 2017.

²³ Berdasco & Esteller, 2019.

²⁴ Jeschke et al., 2017.

²⁵ Declerck & Vanden Berghe, 2018.

²⁶ Wrangle et al., 2013.

²⁷ Ganesan et al., 2019.

²⁸ Vanden Berghe, 2012; Szarc vel Szic, 2015.

²⁹ Rots & Jeltsch, 2018.

gefilterd en gesequentieerd om de gemethyleerde delen van het genoom te bepalen. Deze benaderingen leveren zeer complete DNA-methylatiekaarten op, maar zijn minder kwantitatief en minder reproduceerbaar, terwijl ze complexer en duurder zijn³⁰. Aangezien deze benaderingen grotere hoeveelheden invoermateriaal vereisen, is de toepassing ervan beperkter. Klinische studies naar kanker en andere complexe ziekten vereisen bijvoorbeeld het profileren van grote patiëntencohorten uit kleine hoeveelheden invoermateriaal. Een andere technologie met een hoge doorvoersnelheid die nuttig is voor grootschalige klinische studies is de sequencing van bisulfiet met een gereduceerde representatie, waardoor een single-base resolutie mogelijk wordt. Hiervoor volstaan kleinere monsters en de kosten zijn lager. Het nadeel is dat slechts een deel van het methyloom gesequentieerd wordt.

Momenteel wordt een nieuwe technologie ontwikkeld, genaamd 'Single Molecule Real-Time' (SMRT) sequencing. Voor deze aanpak is de eerder genoemde bisulfietbehandeling niet nodig. De verwachting is dat deze technologie in de nabije toekomst³¹ een revolutie teweeg zal brengen in de epigenetische diagnostiek. Achttien verschillende DNA- en RNA-modificaties worden in één keer gemeten. Naast methylatie worden ook andere epigenetische mechanismen gemeten. Dit zal het begrip van deze veel minder begrepen mechanismen bevorderen en zal een veel vollediger beeld opleveren van epigenetische veranderingen in een ziekte, op voorwaarde dat er een geïntegreerde gegevensanalyse beschikbaar is met betrekking tot de levensstijl en de milieublootstelling aan biologisch relevante zaken. Het houdt dus ook de belofte in van een betere diagnose.

Klinische toepassingen

Ondanks zijn kleine omvang loopt België voorop in het epigenetisch onderzoek. Verschillende groepen onderzoeken epigenetische veranderingen in ontwikkeling en ziekte. DNA-methylatie wordt uitgebreid bestudeerd in klinische studies in verschillende patiëntencohorten aan de ULB, UAntwerpen, UGent en KU Leuven^{32 33 34} om de relatie te onderzoeken tussen beroepsmatige en omgevingsblootstelling van parameters zoals oplosmiddelen, (nano)deeltjes en vervuiling, leefstijlgebonden aspecten zoals voeding en stress, alsook veroudering en ziekteontwikkeling bij hart- en vaatziekten (CVD), astma, obesitas, kanker en neurobehaviorale aandoeningen. Onderzoekers van de ULB hebben een buitengewone expertise opgebouwd in het epigenetische domein door de ontwikkeling te begeleiden, het klinisch gebruik te valideren en bio-informaticapijplijnen te ontwikkelen voor de analyse van de 'Infinium Human Methylation Arrays'³⁵³⁶. Dit heeft een impuls gegeven aan 'Epigenome-Wide Association Studies' (EWAS) om diagnostische/prognostische epigenetische biomarkers te bepalen in verschillende pathologieën (kanker, CVD, neurodegeneratieve aandoeningen)³⁷.

De waarde van het bestuderen van epigenetica wordt duidelijk in het onderzoek naar burn-out. Ondanks de duidelijke sociaaleconomische belasting is er verrassend genoeg weinig bekend over de pathofysiologie van burn-out. Hoewel eerdere studies suggereren dat er fysiologische veranderingen optreden bij een burn-out, ontbreekt er nog steeds een basis voor specifieke biomarkers³⁸. Hoewel er nog steeds geen gestandaardiseerde diagnose van burn-out is, bestaat er geen twijfel over dat burn-out zich ontwikkelt als reactie op chronische stress. Recent onderzoek

³⁰ Ardui et al., 2018.

³¹ Ardui et al., 2018.

³² Dedeurwaerder et al., 2011.

³³ Berdasco & Esteller, 2019.

³⁴ Milenkovic et al., 2020; Declerck et al., 2019; Langie et al., 2017; Saenen et al., 2017; Thienpont et al., 2016.

³⁵ Dedeurwaerder et al., 2011.

³⁶ Dedeurwaerder et al., 2014.

³⁷ Berdasco & Esteller, 2019.

³⁸ Danhof-Pont et al., 2011.

naar de interactie tussen stress en lichaam biedt een solide basis voor het identificeren van paden die een rol zouden kunnen spelen in de pathofysiologie van burn-out. Een toenemend aantal studies toont aan dat epigenetische veranderingen het schakelmechanisme kunnen zijn tussen een ongunstige psychosociale omgeving en de ontwikkeling van stressgerelateerde symptomen³⁹. Gezien het feit dat DNA-methylatiemodificaties gevoelig zijn voor de omgeving, zijn stabiele en omkeerbare, epigenetische studies van stressgerelateerde geestelijke gezondheidsproblemen een veelbelovende aanpak om burn-out beter te begrijpen en te behandelen en om de differentiële diagnose tussen burn-out en depressie te ondersteunen. Aan de KU Leuven is belangrijke vooruitgang geboekt in het onderzoek naar de onderliggende biologische mechanismen van psychische aandoeningen en de mogelijke klinische toepassing van epigenetische signatuur.

Toekomstperspectieven

Onderzoekers aan de KU Leuven onderscheiden zich door hun geavanceerde technologieën om epigenetische veranderingen in individuele cellen te meten⁴⁰. Onderzoekers aan de UAntwerpen, UHasselt en KU Leuven hebben epigenetische diagnostiek en biomarkers op basis van speeksel geïntroduceerd, als alternatief voor het gebruik van bloed⁴¹.

Om van laboratorium tot ziekbed te gaan, begonnen de onderzoekers aan de ULB samen te werken met partners uit de industrie om een diagnostische test te ontwikkelen op basis van een epigenetische signatuur⁴² met het oog op het voorspellen van de uitkomst van borstkankertherapie, inclusief immunotherapie.

3 Transcriptomics

Definitie en beschrijving

De meeste genen bevatten de informatie die nodig is om functionele eiwitmoleculen te maken. In dat transcriptieproces van het maken van functionele eiwitmoleculen wordt de DNA-sequentie van een gen gekopieerd om een RNA-molecuul te maken. Een van de belangrijkste en best bestudeerde klassen van RNA-moleculen is boodschapper-RNA (mRNA). mRNA dient als sjabloon voor de productie van eiwitten. Onlangs werd een andere klasse van RNA-moleculen ontdekt. De RNA-moleculen in deze grote en heterogene klasse coderen niet voor eiwitten, maar kunnen eiwitten binden om verschillende processen in een cel te reguleren, waaronder de transcriptie.

De verzameling van RNA-moleculen in een cel of weefsel wordt het transcriptoom genoemd. 'Transcriptomics' verwijst naar de studie van dit transcriptoom. Het veld richt zich vooral op het meten van de overvloed aan RNA-expressieniveaus in een cel of in weefsel. Elk cel- of weefseltype heeft een uniek RNA-expressieprofiel. Dit profiel verandert in de context van een specifieke blootstelling, zoals luchtvervuiling, en menselijke ziekten, waaronder kanker. Het meten van deze veranderingen kan helpen bij het definiëren van ziekte-toestanden, het voorspellen van de prognose van de patiënt en het ondersteunen van de therapeutische besluitvorming⁴³.

Geavanceerde technische mogelijkheden

De volgende generatie sequencingtechnologie heeft de ontwikkeling van kosteneffectieve methoden voor het kwantificeren van het menselijk transcriptoom mogelijk gemaakt. Deze

³⁹ Zannas & West, 2014.

⁴⁰ Fiers et al., 2018.

⁴¹ Langie et al., 2017.

⁴² Jeschke et al., 2017.

⁴³ Vrijens et al., 2017.

methoden, algemeen aangeduid als RNA-sequencing, maken een onbevooroordeelde beoordeling van het gehele transcriptoom mogelijk, inclusief coderende en niet-coderende RNA's.

Naast het kwantificeren van de RNA-overschotten, biedt RNA-sequencing ook een beeld van de enkel-nucleotide resolutie op het transcriptoom. Dit effent o.a. het pad om transcriptiegekoppelde reparatie (TCR) te bestuderen. Deze TCR, de transcriptie-afhankelijke, preferentiële excisiereparatie van de templatestreng naar de niet-getranscripteerde (coderings)streng, is duidelijk aangetoond. Enkel-nucleotide resolutie stelt onderzoekers in staat om tegelijkertijd veranderingen in de RNA-sequentie te bestuderen. Dat is vooral belangrijk bij kankercellen, die gekenmerkt worden door mutaties en genfusies.

Op dit moment is RNA-sequencing nog voornamelijk beperkt tot onderzoeksinstellingen. Het doel is om de veranderingen die kenmerkend zijn voor menselijke ziekte-toestanden beter te begrijpen, om nieuwe therapeutische doelwitten te identificeren of om nieuwe voorspellende biomarkers te ontdekken. Hiertoe zijn verschillende internationale initiatieven gestart, waarbij de RNA-sequencingtechnologie wordt toegepast om het transcriptoom van gezond weefsel en kankerweefsel onder duizenden kankerpatiënten te kwantificeren. Opmerkelijke voorbeelden zijn The Cancer Genome Atlas (TCGA) en het Genotype-Tissue Expression Project (GTEx) onder de Amerikaanse nationale gezondheidsinstellingen (NIH). Het TCGA-project werd geïnitieerd en gecoördineerd door het National Cancer Institute en het National Human Genome Research Institute in de Verenigde Staten en paste verschillende RNA-sequencing methoden toe op kanker en normale weefsels van meer dan 11.000 kankerpatiënten die 33 verschillende soorten kanker vertegenwoordigden⁴⁴. Na afronding van het project in 2017 werden er via het Center for Cancer Genomics nieuwe initiatieven gestart door het Amerikaanse National Cancer Institute (NCI). Het GTEx-project heeft RNA-sequentiegegevens verzameld van honderden gezonde postmortale donoren voor maximaal 42 verschillende weefsels⁴⁵.

Klinische toepassingen van genexpressiesignaturen berusten voornamelijk op meer gerichte methoden om genexpressie te kwantificeren, waaronder 'Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction' (RT-qPCR). Deze methoden kunnen de expressie van het beperkte aantal genen in de signatuur meten tegen een lage kostprijs en met een korte doorlooptijd.

Klinische toepassingen

Borstkanker is een heterogene ziekte. In de afgelopen tien jaar heeft genexpressieprofielering geleid tot een beter begrip van de aard van deze ziekte. Er werden vier moleculaire (intrinsieke) subtypes van borstkanker onderscheiden. Dit zijn lumbale, HER2 (humane epidermale groeifactorreceptor 2)-positieve, basale en normaallijkende borstkanker⁴⁶. Elk van deze subtypes wordt gekenmerkt door verschillende onderliggende ziektemechanismen en moleculaire kenmerken. Hierdoor is het nu mogelijk geworden om de keuze van therapie te baseren op het specifieke subtype, waardoor een veel doelgerichte aanpak mogelijk is. Luminale borstkankers zijn meestal gevoelig voor hormoontherapie. HER2-positieve tumoren hebben daarentegen baat bij een anti-HER2 gerichte therapie, terwijl basale en normaallijkende borsttumoren meestal met chemotherapie worden behandeld.

Na de chirurgische verwijdering van de primaire borsttumor is het standaard om adjuvante chemotherapie en/of hormonale behandeling toe te dienen om het risico op uitzaaiingen te verminderen. Luminale tumoren zijn hormoonreceptor-positieve borstkankers die ongeveer zestig tot tachtig procent van alle gevallen van borstkanker uitmaken. Ze kunnen worden onderverdeeld in twee groepen, die luminal A en luminal B worden genoemd. Terwijl luminal A-tumoren zeer gevoelig zijn voor hormoontherapie, kan het nodig zijn om hormoontherapie te combineren met

⁴⁴ Zie <https://cancergenome.nih.gov/abouttcga> voor meer informatie.

⁴⁵ Zie <https://www.genome.gov/27543767/genotypetissue-expression-project-gtex>

⁴⁶ Zie tabel: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5648272/table/t1-jbh-13-4-168/>

chemotherapie bij luminal B-tumoren. De klassieke klinische en histo-pathologische predictoren volstaan niet om een onderscheid te maken tussen de luminal A- en B-subgroepen. Deze klassieke predictoren kunnen de verschillende uitkomsten van lumina A- en B-borstkanker ook niet voorspellen. Om dit verschil te verklaren en om beter onderscheid te kunnen maken tussen patiënten die al dan niet chemotherapie nodig hebben als onderdeel van hun adjuvante behandeling, werden er verschillende genexpressie-analyses ontwikkeld die momenteel gecommmercialiseerd worden.

De eerste test is de MammaPrint⁴⁷. Het meet de expressie van zeventig genen, waarbij een onderscheid wordt gemaakt tussen borstkankerpatiënten met een goede of slechte prognose. Deze prognose is afhankelijk van het risico om binnen vijf jaar na de diagnose een metastase te ontwikkelen. De test wordt aanbevolen voor borstkanker in een vroeg stadium bij alle leeftijden in gevallen met tumoren kleiner dan vijf centimeter, waarbij de betrokkenheid van de lymfeklier tussen 0 en 3 ligt.

Een andere test is de in de handel verkrijgbare, op RT-PCR gebaseerde (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction) signatuur Oncotype DX Breast Cancer Assay⁴⁸. Het evalueert de mRNA-niveaus van 21 genen en wordt gerapporteerd als een enkele herhalingscore (RS), variërend tussen 0 en 100. De patiënten worden verdeeld in drie risicogroepen, afhankelijk van het risico op uitzaaiing op grotere afstand binnen tien jaar. 1 staat voor laag risico (RS<18), 2 staat voor intermediair risico (RS 18-30) en 3 staat voor hoog risico (RS>30).

Ten slotte maakt de PAM50⁴⁹-assay gebruik van vijftig classificatiegenen en vijf controlegenen. Samen met de tumordiameter en de vier belangrijkste intrinsieke subtypes zorgt het voor een risico op herhaling (ROR). De PAM50-score wordt gerapporteerd op een 0-100 ROR-schaalscore. Dit is gecorreleerd met de kans op een verre herhaling op tien jaar voor vrouwen met hormoonreceptor (HR) positief, vroeg stadium node-negatief of node 1-3 positief borstkanker. De patiënten worden verdeeld in hoge (> 20 %), intermediaire (10 tot 20 %) en lage (< 10 %) risicogroepen.

Deze commerciële tests kosten gemakkelijk tot € 2.000 à 3.000 per patiënt. Vanwege deze hoge kosten worden de tests momenteel niet vergoed in België. In sommige andere EU-landen worden de tests echter al vergoed en algemeen gebruikt. Deze tests moeten een beter geïnformeerde besluitvorming mogelijk maken over welke adjuvante chemotherapie moet worden gegeven. Het belangrijkste voordeel ligt in de mogelijkheid om onnodige chemotherapie te vermijden. Dit houdt de belofte in om de behandelingskosten te verlagen en zo de mogelijke bijwerkingen van onnodig toegediende chemotherapie te verminderen. Deze voordelen moeten zorgvuldig worden afgewogen tegen de kosten.

De toepassing van genexpressieprofielering is niet beperkt tot alleen borstkanker. Bij colorectale kanker (CRC) zijn er bijvoorbeeld talrijke pogingen gedaan om tumoren te classificeren op basis van mutatie, DNA-methylatie of histo-pathologische gegevens. Onlangs heeft subtypering op basis van genexpressieprofielering geresulteerd in vier 'Consensus Molecular Subtypes' (CMS) van CRC. Al deze CMS-classificatietypes hebben hun eigen specifieke kenmerken en worden bijvoorbeeld geassocieerd met verschillen in progressievrije overleving. Momenteel wordt het nut ervan voor de therapeutische besluitvorming onderzocht.

Toekomstperspectieven

De ontwikkeling van sequencingtechnologieën in combinatie met een doorbraak in de microfluidica-apparatuurtechnologie heeft geleid tot een snelle opkomst van meervoudige eencellige sequencingtechnologieën. In deze op druppeltjes gebaseerde platformen worden

⁴⁷ Cardoso et al., 2016.

⁴⁸ Paik et al., 2004.

⁴⁹ Parker et al., 2009.

druppels die specifieke reagentia bevatten, gebruikt als micro-reactiekamers: individuele cellen worden met deze druppels gemengd, zodat elke cel op een unieke manier wordt opgevangen door een enkele druppel. Elke druppel wordt ook gekenmerkt door een unieke barcode die het mogelijk maakt om genexpressiegegevens te koppelen aan de individuele cel. Vervolgens genereren standaard moleculaire reacties complementair DNA (cDNA) en RNA-sequentiebibliotheken. Dit resulteert in eencellige transcriptomische datasets. Deze eencellige transcriptoomgegevens stellen ons in staat om weefsels met een ongekennde precisie te karakteriseren. Deze gegevens bieden nieuwe inzichten in de functies van individuele cellen en de interacties tussen individuele cellen. Het brengt onze inzichten in de biologie en het menselijk lichaam naar een nieuw niveau.

Vroeger was genexpressieprofilering alleen mogelijk op bulk-RNA van duizenden cellen. Dat resulteerde in transcriptoomgegevens die de expressiesignalen over de verschillende populaties van deze cellen gemiddeld weergeven. 'Single Cell Sequencing' betekende een revolutie en werd daarom in 2013 uitgeroepen tot 'methode van het jaar' door het vooraanstaande tijdschrift *Nature Methods*. Sindsdien zijn de toegankelijkheid en de mogelijke toepassingen van eencellige sequencing exponentieel gegroeid. De technologie ontwikkelt zich nu snel tot de meest geavanceerde techniek voor het profileren van genexpressieveranderingen.

Ontdekking van zeldzame cellen

De eencellige aanpak maakt het mogelijk om vergelijkbare gegevens te genereren voor een groep van individuele unieke cellen, waardoor nauwkeuriger en gedetailleerdere datasets kunnen worden gegenereerd, met de hoogst mogelijke resolutie. De mogelijkheid om het transcriptoom van individuele cellen te karakteriseren, zal ons toelaten om zeldzame en nog onbekende celtypes te detecteren.

De Menselijke Cel Atlas

De 'Human Cell Atlas' is een wereldwijd initiatief gericht op het creëren van een uitgebreide referentiekaart voor de 37 biljoen cellen in het menselijk lichaam met behulp van eencellige expressieprofilering⁵⁰. De informatie die dit initiatief zal verzamelen, zal naar verwachting inzicht geven in de basisbouwstenen van levende organismen. Het zal bijdragen tot een beter begrip van het menselijk lichaam, met belangrijke implicaties voor de diagnostiek, het toezicht op de ziekte en de behandeling.

Kankeronderzoek

Kanker bestaat uit (epi)genetisch en fenotypisch verschillende populaties van enkele cellen. Deze intra-tumor cellulaire heterogeniteit ligt ten grondslag aan de resistentie van de tumor tegen de behandeling van kanker. Als zodanig is het verbeteren van ons begrip van intra-tumor cellulaire heterogeniteit, zowel in kankercellen als in de omliggende immuuncellen, tot aan de eencellige resolutie, van essentieel belang om therapeutische resistentie te bestrijden. Het is ook van vitaal belang voor de ontwikkeling van effectievere kankermedicijnen. Terwijl de kankeronderzoekers lang hebben geprobeerd om enkele cellen te bestuderen, zijn de hulpmiddelen die tot hun beschikking staan beperkt geweest. Dankzij de snelle opkomst van 'single-cell sequencing'-technologieën, met een groot vermogen om tegelijkertijd het transcriptoom van individuele cellen te karakteriseren, zijn veel baanbrekende ontdekkingen te verwachten.

We staan pas aan het begin van het 'eencellige profileringstijdperk'. Doorbraken zullen naar verwachting op korte termijn onze inzichten in fundamentele biologische ziekteprocessen nog verder vooruithelpen.

⁵⁰ <https://www.humancellatlas.org>

Eencellige multi-omics

Eencellige multi-omics zullen ons in staat stellen om enkele cellen te ondervragen, niet alleen op het niveau van de genexpressie, maar ook op andere (epi)genetische niveaus. Het zal binnenkort mogelijk zijn om mutaties, DNA-methylatieveranderingen, kopieergetalafwijkingen evenals open chromatinemodificaties te karakteriseren op het eencellige niveau. Het zal echter een grote rekenkundige uitdaging zijn om elk van deze datasets te combineren en te integreren tot op het niveau van één cel of weefsel. Desalniettemin wordt verwacht dat dergelijke strategieën verbazingwekkende inzichten zullen opleveren in het cellulaire gedrag van gezonde versus zieke weefsels.

Spatial transcriptomics

Deregulering van de communicatie in cellen binnen tumorweefsel staat centraal bij de ziekte. Bijgevolg is het vermogen om enkelvoudige cellen te analyseren binnen de ruimtelijke resolutie van het oorsprongweefsel ervan de sleutel tot het begrijpen van de ziekte. Terwijl de histopathologie zeer informatief is geweest in het verstrekken van ruimtelijke informatie, beperkt het lage aantal gelijktijdige metingen en de afhankelijkheid van enkelvoudige kleuringen de toepassing ervan. De aanpak van deze problemen bestaat hoofdzakelijk uit 'brute force'-methodes. Deze vereisen tijdrovende vlek-, strip- en wascycli die een risico op aantasting van het monster met zich meebrengen. Recent werden de eerste toepassingen van 'in-space single-cell'-technologieën⁵¹ ontwikkeld. Zodra deze breder beschikbaar zullen zijn, zullen we single-cell data in een ruimtelijke context in kaart kunnen brengen en cel-naar-cel-communicatienetwerken in zieke weefsels kunnen ontleden.

'Cellular Indexing of Transcriptomes and Epitopes by Sequencing', cellulaire indexering van transcriptomen en epitopen door middel van sequencing (CITE-sequencing)

High-throughput single-cell RNA sequencing heeft ons begrip van complexe celpopulaties getransformeerd. Het geeft echter geen informatie over het eiwitgehalte. Onlangs werd een cellulaire indexeringsmethode van transcriptomen en extracellulaire epitopen door middel van sequencing ontwikkeld⁵². Deze methode maakt gebruik van oligo-nucleotide-gelabelde antilichamen en combineert deze met standaard eencellige methoden om een gecombineerde uitlezing van eencellige RNA- en eiwitniveaus te genereren.

4. Proteomics

Definitie en beschrijving

Alle levende organismen produceren eiwitten. Deze klasse van biomoleculen vormt een essentiële structurele en functionele component van cellen. Eiwitten vertegenwoordigen ongeveer de helft van de droge massa van een cel⁵³. Twee belangrijke kenmerken maken dat eiwitten zich onderscheiden van andere biomoleculen. Ten eerste kunnen veel eiwitten als enzymen functioneren en biochemische reacties katalyseren. Ten tweede zijn eiwitten genetisch gecodeerd in het DNA van een organisme. Zij kunnen worden beschouwd als de moleculen die de chemische reacties uitvoeren die verantwoordelijk zijn voor het leven, terwijl de informatie om eiwitten te produceren wordt opgeslagen in het genoom.

⁵¹Zoals Seq-FISH ('Sequential Fluorescence *In Situ* Hybridization') en FISSEQ ('Fluorescence *in situ* sequencing').

⁵² Genaamd CITE-seq.

⁵³ Milo, 2013.

Eiwitten worden gemaakt van lange ketens van aminozuren. In de meeste organismen, waaronder de mens, bestaan er twintig verschillende varianten van deze bouwstenen. Tijdens de eiwitsynthese kunnen de cellen aminozuren doen samensmelten. Het resultaat is een unieke sequentie die zowel de structuur als de functie van het nieuw gevormde eiwit bepaalt. De volgorde waarin de aminozuren aan elkaar zijn gekoppeld, is gecodeerd in het celgenoom. Meer specifiek: in de corresponderende eiwitcoderende genen. Niet alle 21.000 eiwitcoderende genen komen tot expressie in elke lichaamscel. Afhankelijk van de celfunctie wordt een specifieke set eiwitten gesynthetiseerd. Op basis van onderzoek met veelgebruikte menselijke cellijnen wordt geschat dat er ongeveer 10.000 verschillende eiwitten tot expressie komen⁵⁴. Het eiwitsynthesep proces ontwikkelt zich niet altijd vlekkeloos. Er kunnen afwijkingen in de aminozuursequentie voorkomen, evenals afwijkende eiwitexpressieniveaus. Dit kan leiden tot ziekte.

Bijna elke ziekte is terug te voeren tot een eiwitstoring. Informatie over de identiteit, de modificaties, de toestand en de hoeveelheid eiwitten is daarom enorm waardevol voor onderzoekers. Dergelijke informatie helpt om de mechanismen achter een ziekte te begrijpen. Bovendien kan deze informatie worden gebruikt voor diagnosedoeleinden met behulp van biomarkers. Deze worden al tientallen jaren in de geneeskunde gebruikt. Proteomics is het onderzoeksgebied dat het geheel van eiwitten in een biologisch monster, het proteoom, onderzoekt.

Om al deze eiwitten te meten, maken proteomics-onderzoekers tegenwoordig gebruik van massaspectrometers (MS). Deze instrumenten zijn in essentie complexe weegschalen die het mogelijk maken om de massa van biomoleculen zoals eiwitten of eiwitfragmenten te meten. Uit deze metingen kan de unieke aminozuursequentie en daarmee de identiteit van eiwitten worden afgeleid. In combinatie met krachtige computationele analyses kunnen proteomics-faciliteiten zoals het VIB (Vlaams Instituut voor Biotechnologie) Proteomics Core in Gent en het Centre for Proteomics in Antwerpen routinematig duizenden eiwitten meten in een enkele analysesessie van twee tot vier uur. Een dergelijke meting heeft doorgaans betrekking op meer dan vijftig procent van de eiwitten die in menselijke cel- of weefselmonsters tot expressie komen.

Geavanceerde technische mogelijkheden

Bloed speelt een centrale rol in het menselijk lichaam. Dit houdt in dat bloed een universele weerspiegeling vormt van iemands gezondheidstoestand. Biomarkers worden vaak gemeten in het bloed van de patiënt. Ze worden gebruikt om patiënten te categoriseren en om behandelingsbeslissingen te ondersteunen.

Eiwitten zijn een belangrijk type biomarkers in plasma of serum, de vloeibare fractie van bloed. Tot op heden worden meer dan honderd eiwitten getest in klinische bloedtests⁵⁵. Een bekend voorbeeld is C-reactief eiwit (CRP), een leverproteïne die in het bloed toeneemt als gevolg van een ontsteking. Een andere is cardiaal troponine, een harteiwit dat na een hartinfarct⁵⁶ in het bloed vrijkomt. Eiwitbiomarkers in plasma worden meestal gemeten in klinische routinelaboratoria. Enzymatische tests of immuno-analyses op geautomatiseerde high-throughput analysatoren kunnen tot 10.000 testresultaten per uur opleveren⁵⁷.

Deze laatste tests zijn eenvoudig te gebruiken en zeer geschikt voor de klinische routine. Ze zijn het resultaat van nieuwe biomarkeridentificatiestudies die gebaseerd waren op complexere technologieën.

Van de meer dan honderd eiwitten die momenteel in klinische tests worden gebruikt, is tachtig procent meer dan vijftientig jaar geleden geïntroduceerd. Dankzij de opkomst van de

⁵⁴ Beck et al., 2011.

⁵⁵ Anderson, 2010.

⁵⁶ Anderson, 2010.

⁵⁷ Geyer et al., 2017.

massaspectrometrie in de afgelopen twee decennia hebben proteomics-onderzoekers honderden MS-studies naar nieuwe eiwitbiomarkers voor vele ziekten in menselijk plasma of serum kunnen uitvoeren. Deze enorme inspanning heeft de afgelopen jaren geleid tot de introductie van slechts een beperkt aantal nieuwe biomarkers in de kliniek. De huidige ontdekkingsgraad van de nieuwe proteïemarkers bedraagt minder dan twee per jaar⁵⁸. Bovendien zijn de meest recente goedgekeurde tests niet het resultaat van proteomics-onderzoek. In veel gevallen worden deze nieuwe tests niet op grote schaal gebruikt of erkend door klinische laboratoria⁵⁹. Dit bewijst dat er een kloof bestaat tussen de klinische praktijk en de 'proteomics biomarker discovery'-studies.

De oorzaken van het lage succespercentage worden nu duidelijk. Beperkingen in de proteomics-technologie en in het experimentele ontwerp van 'biomarker discovery'-studies worden duidelijk. De bijzondere samenstelling van het plasma-proteoom maakt het moeilijk om meer dan enkele honderden van de meest voorkomende plasma-eiwitten te identificeren. Sommige daarvan, zoals het transporteiwit albumine, zijn overvloedig aanwezig in het menselijk plasma. Deze overvloed in het plasma belemmert de detectie van minder overvloedige eiwitten. Dit verklaart waarom bijna zeventig procent van alle eiwitbiomarkers die vandaag de dag klinisch worden gebruikt, tot de eerste driehonderd meest voorkomende eiwitten behoren⁶⁰.

Om deze uitdaging gedeeltelijk te overwinnen en om de detectie van zeldzamere eiwitten te verbeteren, worden zeer frequente eiwitten vaak al voor de MS-analyse gedepleteerd. Als alternatieve strategie wordt fractionering toegepast: één monster wordt opgesplitst in meerdere monsters om de complexiteit te verminderen vóór de MS-analyse. Zowel depletie als fractionering brengen echter problemen met zich mee. Het grootste probleem is dat deze procedures niet verenigbaar zijn met high-throughput studies.

Als gevolg daarvan hebben de meeste onderzoeken naar de ontdekking van plasmabiomarkers zich tot voor kort gericht op de analyse van slechts twintig tot dertig monsters. Tot overmaat van ramp zijn dit vaak slecht geannoteerde 'restjes' van onbekende integriteit. Gezien het grote aantal te meten eiwitten in de monsters, zijn de monsteraantallen (te) klein om harde bewijzen te vinden voor bruikbare biomarkers. De meeste studies stellen daarom slechts enkele 'potentiële biomarkers' voor, gedefinieerd als eiwitten die differentiëren tussen patiënten en controles. Vaak is het onwaarschijnlijk dat deze kandidaten specifieke indicatoren zijn, omdat ze biologisch gezien geen verband houden met de ziekte. Bovendien zijn de meeste van deze biomarkerkandidaten onvoldoende gevalideerd in verificatiestudies die voldoende grote en goed beschreven patiëntengroepen bevatten met enkele honderden monsters of meer⁶¹.

Klinische toepassingen

Het voordeel van dit gebrek aan succes is dat er belangrijke lessen uit zijn getrokken. In de afgelopen jaren heeft de proteomics-onderzoeksgemeenschap alle aspecten van op MS gebaseerde proteoomstudies aanzienlijk verbeterd. (Semi-)geautomatiseerde monstervoorbereiding in combinatie met meer gevoelige en robuustere MS-instrumenten en software maakt het mogelijk om veel meer monsters op te nemen in 'biomarker discovery'-studies.

Dit heeft geleid tot een paradigmaverschuiving op het terrein. Recente studies worden opgezet in nauwe samenwerking met artsen die monsters verzamelen die volledig bestemd zijn voor het onderzoek. Deze studies zijn ook omvangrijker, omdat ze vanaf het begin enkele honderden patiëntengroepen omvatten. Dit resulteert in een grotere kans op het vinden van patronen om de onderzochte patiëntengroepen te differentiëren. Deze grotere studies zullen het mogelijk maken

⁵⁸ Anderson, 2010.

⁵⁹ Anderson et al., 2013.

⁶⁰ Geyer et al., 2017.

⁶¹ Geyer et al., 2017; Anderson et al., 2013.

om kleine - maar statistisch significante! - verschillen en veranderingen te ontdekken in verband met een groep eiwitten, naast enkelvoudige biomarkerkandidaten.

Een onderzoeksopzet zoals hierboven beschreven maakt een uitgebreide validatiefase overbodig. Bovendien zullen de resultaten direct in de belangstelling staan van de diagnostische industrie en de artsen. Tot nu toe zijn er enkele van dergelijke grootschalige studies uitgevoerd, bijvoorbeeld bij het Duitse Max Planck Instituut. De onderzoekers hebben een aanpak opgezet die het mogelijk maakt om drie- tot vierhonderd plasma-eiwitten te meten in twintig minuten durende MS-analyses. Het uitgangspunt is slechts 1 microliter niet-uitgeput plasma⁶². In een recente studie naar gewichtsverlies analyseerden ze 1.300 plasmaproteoommonsters van 52 personen. Deze studie onthulde 93 plasma-eiwitten die significant veranderen bij gewichtsverlies, vaak met kwantitatieve verschillen die vrij klein maar toch fysiologisch zinvol zijn⁶³. De auteurs identificeerden multiproteïenepatronen die de voordelen van gewichtsverlies op individueel niveau kwantificeerden. Bovendien benadrukken deze en andere studies het voordeel van longitudinale ten opzichte van transversale studieontwerpen, omdat het plasmaproteoom de neiging heeft om veel constanter te zijn binnen een individu in de tijd dan tussen verschillende individuen⁶⁴.

Toekomstperspectieven

De huidige technologische ontwikkelingen zullen de komende jaren een impuls geven aan klinisch proteomics-onderzoek. Er zijn nu verschillende commerciële oplossingen voor de geautomatiseerde bereiding van proteomics-monsters beschikbaar. Onlangs werd het eerste vloeistofchromatografiesysteem voor klinische proteomics geïntroduceerd⁶⁵. Op korte termijn kunnen proteomics-faciliteiten zich aan een sterke toename van het aantal plasmamonsters van patiënten verwachten, van tientallen tot honderden monsters per jaar, als onderdeel van grote biomarkerontdekkingsonderzoeken die op dit moment worden opgezet.

Een opmerkelijk nationaal voorbeeld is een weldra verwacht onderzoek binnen het 'VIB Grand Challenges'-programma. Het heeft tot doel om nieuwe biomarkers voor chronische leveraandoeningen te identificeren en zal het resultaat zijn van een samenwerking tussen onderzoekers en klinici van UZ-Gent, UZ-Leuven en UZ-Antwerpen. Op langere termijn kan een centralisatie van gespecialiseerde instrumenten in klinische proteomics-faciliteiten worden voorzien. Idealiter bouwen deze centrale voorzieningen voort op de expertise van bestaande proteomics-onderzoeksfaciliteiten en zijn ze nauw verbonden met universitaire ziekenhuizen. Internationale voorbeelden zijn het Biomarker Discovery Centre van de Universiteit van Manchester⁶⁶ en het Centre for Clinical Proteomics van de Universiteit van Zuid-Denemarken⁶⁷. Op wereldschaal heeft de Human Proteome Organization (HUPO⁶⁸) verschillende initiatieven gelanceerd die een klinische focus hebben, met name in het kader van hun langlopende Human Proteome Project⁶⁹.

De recente boost in klinische proteomics zal ongetwijfeld leiden tot de ontdekking van nieuwe, klinisch waardevolle eiwitbiomarkers in het komende decennium. Het is echter nog niet duidelijk of massaspectrometers alleen zullen worden gebruikt voor de ontdekking van nieuwe biomarkers of dat deze instrumenten op een dag ook in de kliniek zullen worden geïntroduceerd om te worden

⁶² Geyer et al., 2016a.

⁶³ Geyer et al., 2016b.

⁶⁴ Geyer et al., 2017.

⁶⁵ Bache et al., 2018.

⁶⁶ <http://www.biomarkers.manchester.ac.uk/about/sbdc/>

⁶⁷ https://www.sdu.dk/en/om_sdu/institutter_centre/c_ccp

⁶⁸ <https://www.hupo.org>

⁶⁹ <https://www.hupo.org/human-proteome-project>

gebruikt voor de routinematige analyse van patiëntenstalen. Dit laatste is gebeurd in een vergelijkbare situatie, de intrede van de volgende generatie sequencing-instrumenten in het ziekenhuis.

5. Glycomics

Definitie en beschrijving

'Glycomics' verwijst naar de uitgebreide profilering van alle wijzigingen in de koolhydraatstructuur die aanwezig zijn op de eiwitten of lipiden van een biovloeistof, cel of weefsel⁷⁰. Overal waar interacties tussen biologische entiteiten en hun omgeving voorkomen, zijn complexe gestructureerde koolhydraten, die glycanen worden genoemd, betrokken bij het bemiddelen of moduleren hiervan. Dit is bijvoorbeeld het geval wanneer het influenzavirus zijn doelcel⁷¹ nadert of wanneer het immuunsysteem streptokokken⁷² herkent.

Alle (menselijke) cellen zijn bedekt met een koolhydraatlaag van variabele dikte, de zogenaamde glycocalyx of pericellulaire matrix. De structuur ervan geeft de identiteit van de cel weer en bevat ook informatie over de fysiologische status van die cel. De bio-synthetische systemen die deze glycanen produceren, zijn gecodeerd in honderden genen⁷³. De functionaliteit van de glycocalyx is zeer gevoelig voor omgevingsinvloeden op de cel.

Koolhydraatonderzoek is de oudste tak van de biochemie. De vertakte en zeer diverse aard van de informatiedragende glycaanstructuren heeft echter de vooruitgang in de analysemethodologie lange tijd belemmerd. Bovendien is tussen 1950 en 2000 de aandacht in de biowetenschappen verlegd naar eiwitten en nucleïnezuuren. Deze moleculen met lineaire sequentie zijn veel gemakkelijker te ordenen. Doorbraken in hun analyse hebben voor de boom in de moleculaire levenswetenschappen helpen zorgen.

Sinds het midden van de jaren negentig heeft er een opleving plaatsgevonden in de studie van de glycobiologie. Dit werd mogelijk gemaakt door de komst van hoge-resolutie scheidingstechnologieën⁷⁴ en soft-ionisatie massaspectrometrie. Daarop werd dan de genetica van de glycaanbiosynthese uitgeklaard⁷⁵. De heropleving van het veld werd gekatalyseerd door het algemene besef in alle biomedische studiegebieden dat de glycaanlaag van cellen van vitaal belang is voor een uitgebreid begrip van het grootste deel van de biologie. Glycobiologie is nu een levendig maar nog steeds relatief klein gebied binnen de levenswetenschappen. De grootste gespecialiseerde conferenties in het domein trekken zo'n 1.500 wetenschappers aan. Daarnaast worden glycobiologische studies gepresenteerd op conferenties in alle domeinen van de biowetenschappen.

Glycanen verschillen van andere gangbare eiwitmodificaties zoals fosforylering en ubiquitine (-achtige) modificaties. Ze komen vooral voor op eiwitten die ofwel buiten op het plasmamembraan van de cellen worden weergegeven, ofwel op eiwitten die in de omgeving van de cel worden uitgescheiden. In het laatste geval draagt het glycaanpatroon op afgescheiden eiwitten een 'voetafdruk' van de fysiologische status van de cel die ze heeft afgescheiden. Dergelijke afgescheiden eiwitten komen vaak terecht in een gemakkelijk te bemonsteren biovloeistof zoals bloedplasma, urine, speeksel of cerebrospinaal vocht. Als gevolg daarvan kan de profilering van

⁷⁰ Essentials of Glycobiology - NCBI Bookshelf. op <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK310274/>.

⁷¹ de Graaf & Fouchier, 2014.

⁷² Bonten et al., 2015.

⁷³ Narimatsu et al., 2019.

⁷⁴ multimodale hoogwaardige vloeistofchromatografie (HPLC) en capillaire elektroforese

⁷⁵ Schwarz & Aebi, 2011.

het patroon van de glycanen die aanwezig zijn op de eiwitten in de biovloeistoffen een rijke bron van biomarkers voor ziekten⁷⁶ zijn.

Op dezelfde manier kan het profileren van het patroon van glycanen op het celoppervlak zeer specifieke markers opleveren voor bepaalde celtypes. Het laat vaak toe om tumorcellen te onderscheiden van normale cellen. Dit houdt ook een grote belofte in voor het vinden van nieuwe 'targets' voor immunotherapie, waar veel vraag naar is nu er doeltreffende immunotherapieën zijn uitgevonden⁷⁷. De volgende uitdaging zal zijn om deze doeltreffende therapieën veilig te richten op meer soorten tumoren⁷⁸.

Geavanceerde technische mogelijkheden

Een celoppervlak of afgescheiden glycoom in een zoogdiercel wordt geproduceerd door enkele tientallen glycosidasen en glycosyltransferasen die zich in het afscheidingsstelsel van die cel bevinden⁷⁹. Glycanen worden, grotendeels achter elkaar, opgebouwd op eiwitten en lipiden terwijl ze in doorvoer zijn door dit secretiesysteem. Het proces duurt gemiddeld slechts enkele minuten. De bouwstenen voor de glycaansynthese worden in het cytoplasma van de cel geproduceerd als afgeleiden van de centrale stofwisseling. De bouwstenen worden door een set transporteiwitten in het secretiesysteem getransporteerd. In tegenstelling tot de nucleïnezuursynthese of de eiwitsynthese is de constructie van glycanen niet 'template-gedreven' maar gebaseerd op de relatieve activiteiten van de verschillende enzymen, de beschikbaarheid van de bouwstenen en de contacttijd tussen het glycaan en de enzymen voordat het glycaan verder wordt getransporteerd langs het secretiesysteem. Gezien het dynamische karakter van dit zeer complexe biosynthetische systeem zijn glycanen vaak niet 'compleet' tegen de tijd dat ze door de cel worden uitgescheiden. Eerder dan het verkrijgen van een enkele 'afgewerkte' structuur, vinden we bijna altijd een complexe mix van biosynthetische tussenproducten.

De relatieve hoeveelheden van deze structuren zijn afhankelijk van de celfysiologie en kunnen zelfs zonder enige differentiële expressie van de enzymatische machines die deze glycanen produceren, worden gewijzigd. Dit maakt glycoomprofileren tot zo'n gevoelige bron van informatie over de pathologie, die vaak verder gaat dan wat kan worden verkregen met andere 'omics'-profileringsstechnologieën.

Aan de ene kant bevatten glycanen zeer gewenste informatie, maar aan de andere kant is het analytisch gezien een uitdaging om tot deze informatie te komen. Glycanen zijn meestal delicate vertakte structuren. Daarom moeten de op afbraak gebaseerde sequencingstechnologieën zoals die voor eiwitten/peptiden worden gebruikt, met grote zorgvuldigheid worden toegepast. Deze zullen vaak niet leiden tot een eenduidige sequentiebepaling op zich. Ten tweede zijn glycanen vaak slechts in minieme hoeveelheden uit patiëntenmonsters te verkrijgen en kunnen ze niet worden versterkt. Analysemethoden moeten bijgevolg uitermate gevoelig zijn. Ten derde zijn de glycaanstructuren in een glycoom vaak biofysisch zeer vergelijkbaar. Om die reden zijn scheidingsmethoden met een extreem hoge resolutie noodzakelijk voor een uitgebreide glycoomanalyse. Ten vierde zijn glycanen op zichzelf moeilijk spectroscopisch te detecteren bij hoge gevoeligheid. Glycanen zijn vaak niet inherent geladen. Chemische labeling met fluoroforen of ladingbevattende labels zal vaak de manier zijn om voldoende detectiegevoeligheid te bereiken voor glycomics van patiëntenstalen.

Voor de ontdekking van biomarkers is de eerste taak van een analysemethode voor glycomen het nauwkeurig detecteren van verschillen tussen de glycomen uit 'gezonde' controlemonsters en die uit 'zieke' monsters. In dit ontdekkingsstadium zijn de meest wenselijke methodekenmerken een

⁷⁶ Callewaert et al., 2004.

⁷⁷ Pinho & Reis, 2015.

⁷⁸ Posey et al., 2016.

⁷⁹ In het endoplasmatisch reticulum en in het Golgi-apparaat om precies te zijn.

hoge doorvoer, een hoge resolutie om zoveel mogelijk glycaancomponenten op te lossen, een detectiemethode met een hoog dynamisch bereik en zo gelijk mogelijke responsfactoren van de detector over de verschillende gedetecteerde glycaanstructuren. In dit stadium van de ontdekking van biomarkers is de identiteit van de glycanen die worden geprofileerd van minder belang.

Rekening houdend met al het bovenstaande, wordt glycineprofilering voor de ontdekking van nieuwe biomarkers meestal uitgevoerd met behulp van een hoge-resolutie scheidingsmethode⁸⁰ om de vele, vaak zeer gelijkaardige structuren op te lossen. Dit wordt opgevolgd door een hoge-gevoelighedsdetectiemodus zoals Laser-Induced Fluorescence (LIF) na passende labeling van de glycanen aan hun reductie-eindpunt⁸¹.

Als voorbeeld van een high-throughput profileringsmethode heeft het Callewaert-labo van VIB-UGent een 'Capillary Electrophoresis-Laser-Induced Fluorescence' (CE-LIF) methode ontwikkeld voor 8-aminopyreen-1,3,6-trisulfonzuur (APTS)-gelabelde glycanen. De onderzoekers gebruikten de multicapillaire DNA-sequencers die in het begin van de jaren 2000 werden gebruikt voor de sequencing van het genoom, waardoor destijds de eerste 'klinische glycomics'-biomarkers konden worden ontdekt.

De andere belangrijke methode is 'Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography' (HILIC) -type LC (vloeistofchromatografie) van 2-aminobenzamide gelabelde glycanen, eveneens met fluorescentiedetectie. Deze techniek werd gepioneerd door professor Pauline Rudd en medewerkers van de Universiteit van Oxford⁸². Deze methode heeft een lagere doorvoercapaciteit, maar heeft het voordeel dat ze gemakkelijker geconnecteerd kan worden met ESI-MS-instrumenten voor de latere structurele opheldering van de gedetecteerde analyten.

Er wordt ook gebruikgemaakt van massaspectrometrische profilering met hoge doorvoersnelheid, met name door middel van 'Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization' – 'Time of Flight mass spectrometry' wordt eveneens gebruikt (MALDI-TOF)⁸³. In dit geval moet grote zorg worden besteed aan het verkrijgen van kwantitatief nauwkeurige en reproduceerbare resultaten. LC-MS/MS wordt ook steeds vaker gebruikt voor glycoomprofilering, maar de waarde ervan is vooral te vinden wanneer de plaats van de koppeling van het glycaan aan het eiwit van belang is.

In dergelijke gevallen overlappen de velden van glycomics en proteomics elkaar, omdat de analyten dan de glycopeptiden zijn die het resultaat zijn van proteolytische vertering van de eiwitten in het klinische monster. Dit gebied van 'glycoproteomics' is op dit moment in volle ontwikkeling, zowel technisch als in termen van klinisch nut voor de ontdekking van biomarker en tumordoelwit⁸⁴.

Bij de ontdekking van een glycoomverandering kan een structurele analyse van die vaak weinig glycanen waaruit de biomarker bestaat, worden uitgevoerd met behulp van een combinatie van exoglycosidase-gebaseerde sequencing en massaspectrometrie in de fragmentatiemodus. Aangezien de biosynthetische regels voor de gangbare soorten menselijke glycanen inmiddels goed zijn vastgesteld, beperken deze gegevens de structurele analyse vaak voldoende, zodat een eenduidige identificatie van de glycanen mogelijk wordt.

In zeldzame gevallen moeten grotere hoeveelheden minder goed bestudeerde glycanen worden gezuiverd voor chemische koppelingsanalyse met behulp van gas(vloeibare) chromatografie-

⁸⁰ Micro/nano-HPLC of CE.

⁸¹ Dit reductie-eindpunt is beschikbaar bij enzymatische of chemische afgifte van de glycanen uit hun dragermoleculen (eiwitten of lipiden), waarvoor adequate methoden beschikbaar zijn in het geval van de prevalentie asparagine-gekoppelde glycanen (N-glycanen) en voor sfingolipide-gekoppelde glycanen. Voor mucine-achtige O-glycanen, de andere meest voorkomende klasse van glycanen op zoogdierewitten, zijn adequate vrijgave-enzymen nog steeds onderwerp van actief onderzoek.

⁸² Guile et al., 1996.

⁸³ Kuster et al., 1998.

⁸⁴ Lavery et al., 2015.

massaspectrometrie (G(L)C-MS) en multidimensionale nucleaire magnetische resonantie (NMR). In zulke zeldzame gevallen wordt de identificatie van deze glycanen een aanzienlijke inspanning. De identiteit van de glycaanverandering is echter geen strikte voorwaarde om met een biomarker naar de kliniek te kunnen gaan.

Sommige vroege biomarkers die vandaag de dag nog steeds in gebruik zijn, zijn de tumorantigenen die in de begindagen van de hybridometechnologie werden ontdekt. Menselijk tumormateriaal werd geïnjecteerd in muizen. Er werden monoklonale antilichamen ontdekt die de tumor herkenden, maar niet het gezonde tegenhangerweefsel. Onderzoekers stelden vaak vast dat dergelijke antilichamen een glycaanbevattend epitoom bonden en noemden ze 'Carbohydrate Antigens (CA)'. Meestal wisten ze niet om welke glycaanstructuren het ging. Zo worden onder andere 'Carcino Embryonic Antigen' (CEA) en CA19.9 nog steeds gebruikt⁸⁵. Ze worden vaak niet gebruikt voor de diagnose, maar als onderdeel van tumorbewaking bij de behandeling.

Een opkomend en belangrijk internationaal initiatief is het 'Human Glycome Project'⁸⁶. Het doel is om een uitgebreide inventarisatie te maken van het structurele repertoire van het menselijke glycaan. Een tweede doel is de ontwikkeling van standaardisatie- en kalibratiemethoden voor de glycoomprofileringsmethodologie. Het is ook gericht op de profilering van het 'gezonde' glycoom van menselijke biovloeistoffen en weefsels, om te dienen als basislijnmetingen voor de profilering van 'zieke' glycomen. Laboratoria uit de hele wereld kwamen in 2018 voor het eerst bijeen voor een scopingworkshop voor dit project. België werd vertegenwoordigd door het Callewaert-labo.

Klinische toepassingen

Histo-pathologen maken al heel lang gebruik van glycaanveranderingen om het onderscheid te maken tussen verschillende celtypes en om de afbakening tussen tumor- en normale weefsels te verbeteren. Dit werd en wordt meestal bereikt door het kleuren van weefsels met plantaardige lectines, die glycaanbindende eiwitten zijn⁸⁷. Lectines werden verder eveneens gebruikt om het onderscheid te maken tussen alkalische fosfatase afkomstig van lever- of van botbronnen⁸⁸.

Bloedgroeptyperingsystemen verdienen het eveneens om vermeld te worden in de context van glycomics. De overheersende ABO-bloedgroepen en de Lewis-bloedgroepen worden bepaald door de koolhydraatstructuren op de rode bloedcellen. Als zodanig is het typeren van de bloedgroep in wezen een glycomics-test⁸⁹.

In een striktere definitie zouden glycomics biomarkers zijn die de glycaanstructuren direct profileren door gebruik te maken van specifieke glycaan-analytische methoden. Dergelijke methoden zijn pas zo'n vijftien jaar geleden in onderzoekslaboratoria sterk uitvoerbaar geworden. De eerste klinisch implementeerbare biomarkers op basis van dergelijke technologie worden nu pas beschikbaar. Het heeft een intensieve en langdurige inspanning gekost om de analytische chemie voor glycanen te ontwikkelen tot het punt dat dit bruikbaar werd in routinematige klinische chemie-laboratoria. De eerste directe 'diagnostische glycomics'-biomarker die klinisch beschikbaar zal zijn, zal het 'Glyco Liver Profile' zijn dat ontwikkeld werd door Helena Biosciences uit Newcastle in het Verenigd Koninkrijk. Het is gebaseerd op het vroege werk in dit domein van het Callewaert-labo⁹⁰. Deze test maakt gebruik van een soort analyse die in elk routinematig klinisch laboratorium wordt uitgevoerd.

⁸⁵ Magnani et al., 1981.

⁸⁶ <https://human-glycome.org>

⁸⁷ Brooks, 2017.

⁸⁸ Rosalki, 1994.

⁸⁹ Stanley & Cummings, 2015; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK453042/>

⁹⁰ In deze test wordt het totale serumeiwit N-glycoom geprofileerd met behulp van capillaire elektroforese-UV-detectie op een klinisch elektroforese-instrument dat al in veel laboratoria voor serumeiwitelektroforese aanwezig is.

Patiënten die positief reageren op cirrose op Glyco Liver Profile hebben twaalf keer zoveel kans op het ontwikkelen van leverkanker (Hepato Cellular Carcinoma (HCC)) in de daaropvolgende vijf tot zeven jaar. Met een negatieve uitkomst is er bijna geen kans op het ontwikkelen van leverkanker⁹¹. De test maakt het mogelijk om een vroeg stadium van nodulaire regeneratie op te sporen, wat een kenmerk is van levercirrose. Dit is belangrijk omdat de omvang van de celdeling van hepatocyten in deze knobbeltjes de belangrijkste risicofactor vormt voor het ontwikkelen van leverkanker. Een vroegtijdige opsporing van cirrose maakt het mogelijk om patiënten intensief op te volgen met beeldvormingsmodaliteiten voor het detecteren van kanker, waarvan al is aangetoond dat het zeer kosteneffectief is. Het maakt het mogelijk om leverkanker op te sporen in een stadium waarin een effectieve (chirurgische) ingreep nog mogelijk is.

Deze test is vanaf het vierde kwartaal van 2019 beschikbaar als een kit met CE-markering voor analyse op de Helena V8 Nexus-analyser. Een soortgelijke test voor blootstelling aan chronische ontstekingen is in ontwikkeling⁹². Die test is bedoeld als een controle-instrument voor patiënten met een chronische ontstekingsziekte die in behandeling zijn.

Een eerste immunotherapie gericht op glyco-epitop wordt momenteel gebruikt in klinische studies: een Chimeric Antigen Receptor (CAR) T-celtherapie, gericht op een tumor-geassocieerde glyco-epitop van het MUC1-mucine⁹³. In muismodellen maakte het een sterke controle van vaste tumoren mogelijk. Dat is precies het domein waar de huidige generaties van de CAR-therapie het meeste mee hebben geworsteld. Nu is er een wedloop naar de ontwikkeling van technologie om andere geglycosyleerde tumorgeassocieerde epitopen te ontdekken.

Toekomstperspectieven

Men gelooft dat het combineren van de 'lagen van specificiteit' die door tumor-geassocieerde upregulatie van bepaalde celoppervlakte-eiwitten en tumorgeassocieerde differentiële glycosylering van dergelijke eiwitten worden geboden, onze beste kans vormt om voldoende tumorselectiviteit te bereiken voor zeer krachtige - en daarom vaak ook zeer giftige - antitumorimmunotherapieën.

6. Metabolomics

Definitie en beschrijving

Alle activiteiten die door levende organismen worden uitgevoerd, vereisen energie. Deze energie wordt opgewekt op cellulair niveau. Dat gebeurt door de consumptie van voedingsstoffen: suikers, eiwitten en vet. Deze worden in de darm afgebroken tot hun eenvoudigste vorm: glucose en andere suikers, aminozuren en vetzuren. Vervolgens worden deze via het bloed getransporteerd naar de grote verscheidenheid aan cellen in het lichaam.

Het metabolisme beschrijft het geheel van biochemische reacties die deze afgebroken voedingsstoffen binnen het cellulaire milieu ondergaan om een waaier aan verschillende moleculen te vormen. Het kan worden beschouwd als een biochemische routekaart. Deze kaart toont snelwegen die cruciaal zijn voor het overleven van elke cel en actief zijn in elk celtype. De secundaire wegen van de metabole routekaart stellen de cel in staat om specifieke taken uit te voeren die nodig zijn voor de juiste activiteiten van de weefsels en organen die zij vormen. Levercellen hebben bijvoorbeeld de mogelijkheid nodig om glucose te genereren en op te slaan, afhankelijk van de bloedglucosespiegels. Immuuncellen moeten in staat zijn om ziekteverwekkers te bestrijden door het genereren van toxische moleculen om de ziekteverwekker te elimineren.

⁹¹ Verhelst et al., 2016.

⁹² Vanderschaeghe et al., 2018.

⁹³ Posey et al., 2016.

Pancreascellen moeten insuline kunnen aanmaken. Zo kunnen we eindeloos doorgaan met deze lijst.

Alle biologische processen op het organisme-, orgaan- of celniveau, hebben metabole processen in hun kern. Deze processen zijn van vitaal belang om hun activiteiten en overleving te ondersteunen. Vanwege het belang van deze processen wordt metabolomics beschouwd als het hoogste punt onder de omics-domeinen⁹⁴.

Al in 1924 toonde Otto Warburg de kracht van de stofwisseling aan door te stellen dat kankercellen hun kwaadaardige groei ondersteunen door een niet-oxidatieve afbraak van glucose. Vanaf dat moment werd deze vondst het 'Warburg-effect' genoemd. Hiervoor ontving hij in 1931 de Nobelprijs. Inzicht in het geheel van metabole processen, inclusief de kennis over welke metabole paden actief zijn en hoe deze met elkaar verbonden zijn in een bepaald systeem in gezondheid en ziekte, is de heilige graal van metabool onderzoek.

De hieruit resulterende kennis is uitermate krachtig. Het onthult niet alleen de biochemische processen die de oorzaak of het gevolg zijn van ziekte en de reactie op milieublootstelling. Het toont ook de afwijkende enzymen en regulatoren (eiwitten/proteomics) evenals de verantwoordelijke genen (transcriptomics/genomics) waarop met behulp van (nieuwe) medicijnverbindingen gemikt kan worden. Als zodanig is het domein van de metabolomics zeer complementair aan de andere omics-technologieën⁹⁵.

Het is bekend dat de meeste ziekten - vooral kankers - kunnen worden geëlimineerd wanneer ze in een vroege fase worden ontdekt. De ultieme metabolomics-technologieën zullen vroege biochemische veranderingen met betrekking tot de functies van specifieke organen in het bloed kunnen detecteren via metabole vingerafdrukken. Deze veranderingen kunnen, wanneer ze volledig worden begrepen, informatie verschaffen over het vroege begin van ziekten zoals kanker en ontstekingen. Deze kennis kan een venster bieden voor medische ingrepen. Tot op heden is de grootste uitdaging voor oncologen om de ziekte in het lichaam te lokaliseren.

Geavanceerde technische mogelijkheden

Vanuit technologisch oogpunt vormt het creëren van metabole vingerafdrukken van organen een enorme uitdaging. Het vereist technologieën die in staat zijn om de volledige verzameling van metabolieten te identificeren en hun correlatie met de functionaliteit van weefsels en organen op te helderen. Voorlopig kijken de onderzoekers alleen maar naar het topje van de ijsberg. Ze hebben vierhonderd tot zeshonderd metabolieten geïdentificeerd. Geschat wordt dat er tienduizenden metabolieten in elk systeem aanwezig zijn. Gelukkig gaat de technologische vooruitgang op het gebied van metabolomics snel.

De eerder genoemde strategieën worden nu steeds realistischer. Het instrument bij uitstek voor het uitvoeren van metabolomics is massaspectrometrie (MS). Dit is vooral te danken aan de superieure gevoeligheid en snelheid van de analyse in vergelijking met andere technologieën, zoals de Nucleaire Magnetische Resonantie (NMR) spectroscopie. MS onderscheidt zich verder door de eigen flexibiliteit bij de toepassing van verschillende soorten technologieën voor het bestuderen van een breed scala aan soorten kleine moleculen⁹⁶.

Metabolomics beleeft momenteel een grote heropleving, nu baanbrekende inzichten binnen handbereik komen. Dit komt tot uiting in verschillende wereldwijde initiatieven die de ontwikkeling van geavanceerde metabolomics-toepassingen stimuleren. Deze overbruggen de kloof tussen de onderzoekscentra en de kliniek.

⁹⁴ Patti et al., 2012.

⁹⁵ van Velthoven et al., 2019.

⁹⁶ Lu et al., 2017.

(1) De **National Institutes of Health (NIH)** in de VS hebben in 2012 een metabolomics-programma gelanceerd⁹⁷. Het richt zich op de oprichting van 'Metabolomics Resource Cores' om wetenschappers te helpen metabolomics in hun onderzoek op te nemen. Ook de ontwikkeling van nieuwe onderzoeksinstrumenten voor metabolomics en de vaststelling van nationale en internationale normen voor de opslag van metabolomics-gegevens vallen onder het toepassingsgebied van het programma⁹⁸. Vanwege de positieve en succesvolle resultaten van het NIH-programma 'Common Metabolomics' werd voor 2018-2021 de benodigde financiering voor de tweede fase verkregen.

(2) Het **Netherlands Metabolomics Centre**⁹⁹ (NMC) verzamelt de enorme kennis en uitgebreide expertise van de Nederlandse genomics en life sciences community om de technologieën te ontwikkelen die aan hun eisen voldoen. Door actieve gemeenschapsvorming en samenwerking binnen het domein fungeert het NMC als verbinding tussen verschillende groepen die metabolomics-technologie ontwikkelen en toepassen. Het centrum bevordert actief de overdracht van kennis en technologie op het gebied van metabolomics via een netwerk van geëngageerde partners. Het NMC-team gaat samen de uitdagingen van het metabolomics-onderzoek aan en ontwikkelt de instrumenten en strategieën die het meest nodig zijn voor de Nederlandse en internationale onderzoeksgemeenschap. In de periode 2008-2013 werd via diverse subsidies een aanzienlijke financiering verkregen, voor een totaalbedrag van 50 miljoen euro.

(3) Het **Imperial College London** heeft zwaar geïnvesteerd in een National Phenome Centre. De financiering werd verstrekt door de Medical Research Council (MRC) en de National Institute for Health Research (NIHR). Het werd geleid door het Imperial College London en het King's College London.

Ondanks de aanwezigheid van verschillende metabolomics-onderzoeksgroepen in België, bijvoorbeeld in de UGent, VUB, UAntwerpen, KU Leuven en de Universiteit van Brussel, is er een gebrek aan specifieke nationale metabolomics-financieringsmogelijkheden. Een nationale organisatie voor de metabolomics-groepen ontbreekt eveneens. Dit is vooral te wijten aan een gebrek aan financiële middelen om een dergelijke infrastructuur op te zetten.

Klinische toepassingen

De financiering van metabolomics loont. Een voorbeeld van deze 'return on investment' is te vinden aan de Universiteit van Kentucky. Hier werd een nieuwe methode bedacht voor het monitoren van metabole processen. De ontwikkeling van deze methode werd gefinancierd door het NIH Common Fund Metabolomics Program¹⁰⁰.

De methode vermijdt stressgerelateerde off-target effecten in diermodellen. Volgens het nieuwe protocol voeren onderzoekers met behulp van een vloeibaar dieet gelabelde moleculen aan dieren. Deze niet-invasieve procedure voorkomt dat het dier in bedwang moet worden gehouden of verdoofd. Dit resulteert in minder stress en nauwkeurigere resultaten. Dankzij deze nieuwe methode konden onderzoekers aantonen dat menselijke longkankercellen die in muizen geïmplant werden, een eigen metabolisme hebben. Metabolische aanpassingen van menselijke tumorcellen, zoals de menselijke longkankercellen in dit voorbeeld, kunnen belangrijke gevolgen hebben voor het vermogen van een tumorcel om te overleven in het lichaam. De volgende stap zou natuurlijk zijn om op basis van deze informatie de overleving van tumorcellen te dwarsbomen. Deze bevindingen waren alleen mogelijk dankzij de nieuwe vloeistofdieetmethode

⁹⁷ <https://commonfund.nih.gov/metabolomics>

⁹⁸ Een overzicht van de succesverhalen van de metabolomics review is te vinden op <https://commonfund.nih.gov/Metabolomics/programhighlights>.

⁹⁹ <http://www.metabolomicscentre.nl/>

¹⁰⁰ <https://commonfund.nih.gov/metabolomics>

waarmee onderzoekers kunnen bestuderen hoe cellen hun metabolisme veranderen om groei en overleving te bevorderen¹⁰¹.

Op het Imperial College London is een boeiende toepassing ontwikkeld: de iKnife metabolomics-tool. Het geeft directe informatie aan chirurgen over de al dan niet-kankerachtige aard van het weefsel tijdens de operatie. Deze informatie is essentieel om specifiek alleen de kankerweefsels weg te snijden. Het verbetert de nauwkeurigheid en vermindert de noodzaak van secundaire bewerkingen. De iKnife¹⁰² wordt al gebruikt in de operatiekamer¹⁰³.

Toekomstperspectieven

Er is een sterke wetenschappelijke interesse in het proberen te begrijpen van de biologie door het gebruik van metabolieten. Wat we op dit moment weten over de stofwisseling is verrassend onvolledig. Toch, op basis van wat we wel weten, zijn de toepassingen en mogelijkheden verbluffend. Dit geldt voor de gezondheid van het milieu, voor kanker, voor veroudering en voor stamcelbiologie, om maar een paar aspecten te noemen. De reeds veelbelovende toepassingen zijn gebaseerd op de huidige 'incomplete set' aan metabolieten. De mogelijkheden van een complete set van metabolieten zouden de weg vrijmaken voor veel meer mogelijkheden. Dit ligt binnen ons bereik en zal de komende decennia beschikbaar worden. Aangezien metabolomics-technologieën momenteel in een snel tempo evolueren, kunnen toepassingen nieuwe manieren bieden van gepersonaliseerde geneeskunde en niet-invasieve inzichten in het functioneren van organen en weefsels in ons lichaam.

7. Lipidomics

Definitie en beschrijving

Lipidomics is een ondergroep van metabolomics. Het is gewijd aan de grootschalige studie van de lipiden in een levend organisme of een biologisch monster. Lipiden zijn een subklasse van metabolieten die niet gemakkelijk oplossen in water, maar gemakkelijk oplosbaar zijn in niet-polaire oplosmiddelen. Momenteel zijn er meer dan 40.000 verschillende lipiden bekend. Ze omvatten vetzuren, fosfolipiden, (glyco)sfingolipiden, mono-, di- en triglyceriden, sterolen, vetoplosbare vitamines en wassen. Het volledige lipidenprofiel van een biologisch monster wordt het 'lipidoom' genoemd en kan worden beschouwd als het in water onoplosbare deel van het metaboloom.

Geavanceerde technische mogelijkheden

De bestudering van lipiden blijft historisch gezien achter op de andere 'omics'-benaderingen vanwege de technologische uitdagingen, de complexiteit van het lipidoom, het enorme concentratiebereik, het gebrek aan sondes en het onvermogen om signalen te versterken. Naast de klassieke dunnelaagchromatografie en gaschromatografie heeft met name de toepassing van de massaspectrometrie de lipidomie van individuele lipidesoorten binnen het bereik gebracht van academische en industriële onderzoekscentra, met name die met een metabolomics-achtergrond.

Massaspectrometrie maakt de scheiding en analyse van moleculen mogelijk op basis van hun moleculaire massa en lading. Er wordt een klassieke lipidomische analyse uitgevoerd op organische extracten van monsters. Extracten kunnen in 'shotgun'-lipidomics direct worden geanalyseerd door middel van massaspectrometrie zonder voorafgaande scheiding. Extracten kunnen ook worden geanalyseerd na scheiding door middel van gas- of vloeistofchromatografie. Er is een scala aan instrumenten en technologieën beschikbaar¹⁰⁴, allemaal met een andere

¹⁰¹ Sun et al., 2017.

¹⁰² <https://www.imperial.ac.uk/news/126106/intelligent-knife-tells-surgeon-tissue-cancerous/>

¹⁰³ Balog et al., 2013.

¹⁰⁴ Inclusief ESI-MS/MS, MR-MS, OrbiTrap en andere.

massale resolutie. Naast de analyse van de lipide-extracten kunnen de lipiden ook *in situ* geanalyseerd worden op weefselsecties door middel van massaspectrometrische beeldvorming (MSI). Deze aanpak maakt gebruik van een lasergebaseerd scansysteem, waardoor ruimtelijke visualisatie van lipiden in weefseldelen tot op het niveau van een enkele cel mogelijk is.

Met de komst van deze geavanceerde technologieën bieden tientallen academische en commerciële centra nu lipidomics-analyses aan. Sommige van deze centra zijn in clusters georganiseerd. Een voorbeeld hiervan is het LIPID MAPS-consortium, dat de grootste database met alleen maar lipiden herbergt en protocollen en hulpmiddelen voor op massaspectrometrie gebaseerde lipidomics deelt¹⁰⁵. Euro Fed Lipid is een federatie van Europese onderzoekers en instituten die zich bezighouden met lipidenonderzoek¹⁰⁶. De American Society for Biochemistry and Molecular Biology heeft een Lipid Research Division om de wereldwijde samenwerking in het lipidenonderzoek te bevorderen. Onlangs nog (begin 2020) werd de International Lipidomics Society (ILS) opgericht om lipidomics te promoten door middel van een wereldwijde samenwerking op het gebied van de ontwikkeling van nieuwe technologieën, middelen, vaardigheden en training¹⁰⁷. Belangrijke commerciële aanbieders van lipidomics-diensten zijn onder meer LipoType en Metabolon.

België is een belangrijke speler op het Europese lipidomics-toneel. Verschillende teams hebben een langdurige expertise op het gebied van lipidenanalyse en in verschillende academische en farmaceutische onderzoekscentra zijn lipidomics-centra gevestigd. Met de recente oprichting van een volgende generatie lipidomics platform 'LipoMetrix' neemt de KU Leuven samen met U Hasselt, U Luik en verschillende academische en industriële partners uit Duitsland en Nederland deel aan het EURLIPIDS¹⁰⁸-consortium. Het consortium streeft naar de oprichting van een op de Euregio gebaseerd uitmuntendheidsplatform, de 'Lipid Valley' genoemd, voor op lipiden gebaseerd onderzoek en technologische oplossingen, met inbegrip van de ontwikkeling van nieuwe analysemethoden, biomarkers en biomedische materialen met een uitgesproken translationeel, klinisch en economisch valorisatietraject.

Klinische toepassingen

Lipiden zijn een diverse klasse van biomoleculen en spelen een groot aantal verschillende rollen in de celbiologie. Ze fungeren als essentiële bouwstenen voor membranen als de vitale barrière tussen de binnenkant en de buitenkant van een cel. Deze membranen organiseren veel cellulaire processen. Lipiden zijn ook een energieopslagmedium en fungeren als belangrijke signaalgevers binnen en tussen de cellen. Ten slotte spelen ze een rol als ankers om eiwitten op de membranen te richten.

Gezien de centrale rol van lipiden in het leven, kunnen afwijkende lipidenprofielen of een gewijzigd lipidenmetabolisme in verband worden gebracht met verschillende ziekten en aandoeningen. Het gaat om de ziekte van Gaucher, Tay-Sachs, Niemann-Pick, de ziekte van Faber en vele andere. Een hoog cholesterolgehalte en andere voedingslipiden worden in verband gebracht met hart- en vaatziekten en andere aandoeningen. Veranderde lipidenprofielen zijn gevonden in tal van andere veel voorkomende ziekten, waaronder kanker en neurodegeneratieve ziekten zoals Alzheimer en Parkinson. Deze veranderingen worden vaak veroorzaakt door genomische defecten en latere veranderingen op het niveau van het transcriptoom en het proteoom of worden gedreven door dieet, levensstijl en omgevingsfactoren alsook aanpassingsmechanismen, die samen leiden tot een 'herbedrading' van het lipidenmetabolisme en het koppelen van veranderingen in het lipidoom aan de andere omics-gebeurtenissen.

¹⁰⁵ <https://www.lipidmaps.org/>

¹⁰⁶ <http://www.eurofedlipid.org/>

¹⁰⁷ <https://lipidomicsociety.org>

¹⁰⁸ <https://www.interregemr.eu/projecten/eurlipids>

Op dit moment zijn er nog geen routinematige klinische toepassingen van lipidomics. Het feit dat lipiden functioneren aan het distale einde van de genregulerende cascade en dus een schat aan moleculaire informatie over gezondheid en ziekte bevatten, met inbegrip van voedingskeuzen, en nauwer verbonden zijn met het fenotype van een organisme dan de meeste andere 'omics', wekt echter hoge verwachtingen voor toekomstige toepassingen in de moleculaire pathologie, de diagnose en zelfs de preventie van ziekten. Een spannend voorbeeld, dat al beschreven werd onder metabolomics, is de implementatie van lipidomics in het iKnife-platform. Een ander voorbeeld is de toepassing van ultrasnelle massaspectrometrische beeldvorming (MSI) van chirurgische secties naast de operatiekamer, die een gedetailleerd moleculair pathologisch inzicht biedt voor verdere behandelingsbeslissingen. Aangezien het bewijs toeneemt dat veel vaak voorkomende ziekten geassocieerd worden met veranderde lipidenprofielen in lichaamsvloeistoffen, wordt verwacht dat lipidomics ook een groot potentieel zal hebben voor minimaal invasieve vloeistofbiopsies. Bovendien speelt lipidomics een steeds belangrijker rol in de identificatie van therapeutische doelwitten en in de ontwikkeling van nieuwe therapeutische middelen.

Toekomstperspectieven

Met een huidige routineanalyse van zo'n 2000 lipidesoorten per run, zijn de uitdagingen voor de verdere ontwikkeling van lipidomics onder andere de uitbreiding van het geanalyseerde scala aan lipidensoorten en hun exacte identificatie. Nog uitdagender is de absolute kwantificering van de lipiden. De sleutel tot deze ontwikkelingen is de implementatie van hoge-resolutie massaspectrometrie-instrumenten en de ontwikkeling van passende protocollen en normen. Gezien de grote verscheidenheid aan instrumenten en protocollen die in de verschillende centra in de wereld worden toegepast, zal de toepassing van lipidomics-data op de klinische omgeving een standaardisering van de lipidomics-workflows vereisen. Deze omvatten het ontwerp van de studie, het verzamelen en opslaan van monsters, het gebruik van een gemeenschappelijke set van lipidenstandaarden en de deconvolutie en rapportage van gegevens. Dit is nodig om de onderlinge compatibiliteit, de reproduceerbaarheid en de nauwkeurigheid van de lipidomische gegevens te verbeteren. Gebruikers nemen momenteel het initiatief tot gemeenschapsomvattende normalisatie-initiatieven als een essentiële stap in deze richting.^{109, 110}

Vergeleken met andere 'omics'-benaderingen staat lipidomics nog in de kinderschoenen. Het is die achterstand echter snel aan het inlopen. Ondanks de beperkte fractie van het lipidoom die tot nu toe geanalyseerd kon worden, is het potentieel van deze technologie verbazingwekkend. Nieuwe ontwikkelingen op het gebied van stabiele-isotopenlipidomics zullen de huidige methoden voor het meten van steady-state niveaus van lipiden aanvullen en zullen ongekeerde fluxinzichten via metabole paden onthullen. Verhoogde analytische prestaties en ruimtelijke resolutie zullen de identificatie van het lipidoom op het niveau van de enkele cel mogelijk maken en samen met de evolutie in de andere omics-benaderingen zullen ze een echte ruimtelijke multi-omics-analyse van complexe ziekten mogelijk maken. Er zijn veelbelovende toepassingen van lipidomics op vrijwel alle gebieden van de menselijke gezondheid en ziekte. Door de snelle technologische ontwikkelingen op het gebied van massaspectrometrie en de toenemende inspanningen op het gebied van standaardisatie, wordt verwacht dat er in het komende decennium klinische toepassingen beschikbaar zullen komen. Het vermogen van lipidomics om een unieke fractie van de biologische complexiteit van een monster te 'vangen', bijna in real time, creëert nieuwe mogelijkheden voor intra-operatieve weefseldiagnose. Klinische studies met de iKnife lopen. De eerste ziekenhuizen zijn al bezig met het uitvoeren van massaspectrometrische beeldvorming van lipiden naast de operatiekamer. Lipidomics is voorbestemd om een revolutie teweeg te brengen in de klinische diagnose en de pathologie.

8. Microbiomics

¹⁰⁹ <https://lipidomicsociety.org>

¹¹⁰ Liebisch et al., 2019.

Definitie en beschrijving

Microbiomics is de analyse van de microbiota, de gemeenschap van symbiotische micro-organismen die in en op het menselijke lichaam leven. Het menselijk lichaam is de thuisbasis van een breed scala aan microben, waaronder bacteriën, archaea, virussen en schimmels. Verschillende microbiële gemeenschappen gedijen in verschillende lichaamshabitats, zoals de mond, de neus, de darm, de huid en de vagina. De rijkdom en complexiteit van deze microbiële gemeenschappen varieert afhankelijk van de lichaamshabitats.

De darm is veruit de rijkste microbiële habitat in het menselijk lichaam. Deze darmsymbionten bestaan naast de gastheer in een mutualistische, commensale of parasitaire relatie. Veel belangrijke metabole, immunologische en trofische functies zijn toegeschreven aan de interactie tussen de darmmicrobiota en de gastheer. De darmmicrobiota is verantwoordelijk voor de productie van vitamines, de afbraak van complexe koolhydraten, de productie van aminozuren, de training van het immuunsysteem van de gastheer, de regulatie van de slijmlaag en de uitsluiting van ziekteverwekkers.

De belangrijkste inter-individuele verschillen in de samenstelling van de darmmicrobiota worden gedreven door variaties in de kernmicrobiota. Dit verwijst naar microben die min of meer alomtegenwoordig zijn in een bepaalde populatie. De drie genera van kernmicrobiota *Bacteroides*, *Ruminococcus* en *Prevotella* zijn de drijvende krachten achter de geïdentificeerde menselijke enterotypes. Dit zijn generagedreven clusters op basis van de totale samenstelling van de microbiota. Onlangs werd een vierde enterotype met lage bacteriële belasting ontdekt. Deze wordt B2 genoemd. Verschillende factoren moduleren de darmmicrobiota, zoals leeftijd, geslacht, 'Body Mass Index' (BMI), lichaamsbeweging, voeding, ontlastingstijd en ontlastingsconsistentie.

Geavanceerde technische mogelijkheden

De HGR erkende al vroeg het belang van het microbioom en kende in 2012 een van de eerste HGR-prijzen voor PhD's toe aan baanbrekend werk op dit gebied¹¹¹. Het onderzoek naar microbiota heeft een revolutie teweeggebracht door de ontwikkeling van high-throughput technologieën die het mogelijk maken om microbiële gemeenschappen in hun geheel te bestuderen. Deze technologieën staan bekend als meta-omics of microbiomics en zijn gericht op de directe analyse van genen, transcripten of eiwitten die uit milieumonsters worden gewonnen. Dit gebeurt expliciet door het overslaan van de microbiële teelt en de daarmee gepaard gaande vertekening. Metagenomics begint met het sequencen van het DNA dat uit een microbiële gemeenschap wordt geëxtraheerd. De volgende stap is het bepalen van welke micro-organismen in een monster aanwezig zijn en het bepalen van het functionele potentieel van deze organismen. Door de volgorde van het communautaire RNA te bepalen, maakt meta-transcriptomics het mogelijk de genexpressie van de microbiota te monitoren. Metaproteomics, dat gebaseerd is op proteïnespectrumprofielen, geeft informatie over de eiwitten die worden gesynthetiseerd.

16S amplicon sequencing is gebaseerd op de specifieke amplificatie van een hypervariabele regio van het ribosomale¹¹² RNA-gen dat universeel aanwezig is in microbiële soorten. Toegegeven, het brengt niet de diepe functionele inzichten die metagenomics biedt en heeft een lagere resolutie om microbiële soorten en stammen te ontwarren. Pluspunt is echter dat het een orde van grootte biedt die meer kosteneffectief is voor het verkrijgen van eerste inzichten in de fylogenetische samenstelling van een monster. De verschillende meta-omics-technieken analyseren complementaire aspecten van microbiële gemeenschappen. Het combineren van meerdere meta-omics-technieken houdt dus een grote belofte in om de rol van de darmmicrobiële gemeenschap

¹¹¹ Van den Abbeele, 2011.

¹¹² Dit rRNA heeft een functie in de eiwitsynthese, namelijk de katalyse van de reactie om de eiwitketen te verlengen.

in gezondheid en ziekte te begrijpen. Toekomstige dalingen in de kosten van de sequencing zullen echter het gebruik van shotgun metagenomics tot boven 16S verhogen.

Wereldwijd is 16S amplicon sequencing momenteel veruit de meest gebruikte techniek, gezien de kosteneffectiviteit ervan. Echter, gezamenlijke inspanningen zoals het NIH Human Microbiome Project (I & II)¹¹³ en het 'EU MetaHIT'¹¹⁴-project hebben de nodige middelen verzameld om andere meta-omics-benaderingen uit te voeren in grotere klinische cohorten. Deze initiatieven hebben de productie van referentiedatasets mogelijk gemaakt. Belgische onderzoekers behoren tot de pioniers in dit onderzoeksdomein. Grootschalig populatiecohortonderzoek zoals het Vlaamse 'Gut Flora Project'¹¹⁵ heeft een baseline beoordeling opgeleverd van de gezonde microbiota-variantie en de factoren die deze variantie bepalen. Recente technologische verbeteringen, zoals Quantitative Microbiota Profiling, waarbij sequencing wordt gecombineerd met flowcytometrie, hebben het Belgische onderzoek in de voorhoede van dit domein geplaatst. Deze inspanningen worden gecoördineerd in het recentelijk opgerichte FWO EOS MiQuant consortium.

Klinische toepassingen

Al vele jaren domineren de ziekteassociatiestudies het fecale microbiële onderzoek. Microbiotaveranderingen worden waargenomen in een breed scala van pathologieën, variërend van diabetes, inflammatoire darmziekten en darmkanker tot autisme en de ziekte van Parkinson. Studies op dit gebied zetten aan tot technische en computationele ontwikkelingen die momenteel metagenoomanalyses mogelijk maken. Als gevolg daarvan zijn er voor een breed scala aan pathologieën microbiomgebaseerde signaturen voorgesteld. Deze onderzoeksinspanningen hebben echter niet geleid tot het bereiken van hun primaire doelstelling, namelijk de identificatie van microbiomgebaseerde diagnostische markers of klinische doelwitten voor interventie. Het gebrek aan reproduceerbaarheid heeft tot nu toe de vertaling van het onderzoek naar de klinische praktijk belemmerd.

Dit schijnbare gebrek aan consistentie in fecale microbiële bevindingen heeft de interesse van het veld in het definiëren van de grenzen van darmecosysteemvariantie in gezonde gastheren nieuw leven ingeblazen. Dit heeft geresulteerd in gerichte inspanningen om specifieke confoundereffecten te karakteriseren en in verkennende cohortstudies voor de hele bevolking. Deze studies investeerden uitgebreid in een brede fenotypische karakterisering van hun deelnemers om potentiële microbiologische covariaten te identificeren.

Een van de sterkste confounders en een veelvoorkomend ziektefenotype is variatie in de darmtransittijd. Dit heeft een sterk ecologisch effect op de samenstelling van de microbiota. Elke indicatie van een ziektegebonden microbiota-verandering moet tegen deze ecologische achtergrond worden gecontrasteerd om na te gaan of de waargenomen schommelingen niet alleen het gevolg zijn van een toevallige of symptomatische variatie in de transittijd. De identificatie en integratie van dergelijke confounders en de herevaluatie van klinische cohorten zullen naar verwachting de toekomstige reproduceerbaarheid in studies verhogen.

Een tweede punt is dat de meeste - zo niet alle - metagenomics-bevindingen tot nu toe gebaseerd zijn op relatieve microbiomprofielen. De huidige sequencingprocedures die als gouden standaard gelden, maken het niet mogelijk om de overvloed aan taxa per gram ontlasting te bepalen. Deze procedures geven alleen proportionele informatie over de microbiota-fractie die tot een bepaald geslacht in de sequentiële bibliotheek behoort. De recente ontwikkeling van QMP-protocollen ('Quantitative Microbiome Profiling') maakt het nu mogelijk om dit probleem te omzeilen. De eerste QMP-resultaten tonen aan dat de relatieve benaderingen onze huidige perceptie van de samenstelling van het darmecosysteem in belangrijke mate hebben verstoord.

¹¹³ <https://hmpdacc.org>

¹¹⁴ <http://www.metahit.eu>

¹¹⁵ <http://www.vib.be/en/research/Pages/The%20Flemisch%20Gut%20Flora%20project.aspx>

In een Belgische casestudy¹¹⁶ werden fecale monsters, verzameld in een CD-cohort ('Crohn's Disease'), opnieuw geanalyseerd. Dit leidde tot de conclusie dat ziektegerelateerde microbiota-dysbiose veel opvallender was in een kwantitatieve setting dan algemeen wordt aangenomen op basis van de relatieve uitlezingen. QMP toonde aan dat ongeveer de helft van de genera die een gezond darmecosysteem vormen, bij CD-patiënten werd onderdrukt. Daarnaast werd aangetoond dat de verminderde rijkdom aan microbiota vooral het gevolg was van de tot vijftigvoudige (!) vermindering van het aantal microbiële cellen die bij zieke personen werd waargenomen. Een verminderde rijkdom aan microbiota wordt beschouwd als een belangrijk microbiologisch signaal bij inflammatoire darmziekten.

Bovendien bleken eerder voorgestelde diagnostische signalen sterk beïnvloed wanneer ze gecorrigeerd werden voor absolute overvloed. In het algemeen geven deze voorlopige QMP-resultaten duidelijk aan dat de microbiële belasting een belangrijk kenmerk is van microbiota (dysbiose) signaturen. Dit heeft gevolgen voor prognostische, diagnostische en therapeutische toepassingen op basis van microbiomen. Tot nu toe heeft microbiomics niet de stadia van gevalideerde diagnostiek en prognostiek bereikt zoals wel het geval is in andere omics-domeinen. Er wordt echter van uitgegaan dat haalbare verbeteringen dit in de komende jaren zullen helpen realiseren.

Toekomstperspectieven

Verschillende gebieden op microbioomvlak moeten verder worden ontwikkeld om vooruitgang te boeken in de klinische microbiomics. Een primair gebied is dat van de microbioomdynamiek en de longitudinale variatie. Er is een groot gebrek aan kennis over de temporele variabiliteit van microbioombiomarkers, of het nu gaat om soorten, genen, transcripten of eiwitten. Longitudinale studies bij zowel gezonde populatiecohorten als patiënten zijn nodig om de robuustheid van de microbiomdiagnostiek te bevorderen. Dergelijke gegevens kunnen, in combinatie met grootschalige populatiecohorten, helpen bij het definiëren van referentiebereiken en de afbakening van een gezond microbioom - wat diagnostische ontwikkelingen zal katalyseren.

Ten tweede moeten verdere inspanningen worden gericht op de rijping van metaproteomics en metabolomics. Deze functionele uitlezingen zijn essentieel voor het begrijpen van pathologiemechanismen en therapeutische ontwikkeling. Ten derde zou de analyse van de mucosa-adherente microbiota, met name in het moeilijk te bereiken bovenste maag-darmstelsel, zeer lonend kunnen blijken te zijn. De lage-biomassamonsters die bij dit soort onderzoek betrokken zijn, zijn gevoelig voor besmetting. Gevalideerde procedures om dit aan te pakken ontbreken nog steeds. Ten vierde is de meeste aandacht tot nu toe gegaan naar de darmmicrobiota. Er bestaan echter microbiële gemeenschappen over ons hele lichaam, onder andere: de orale, de huid-, de vaginale en de respiratoire microbiota. Het onderzoek naar deze gemeenschappen en hun relatie tot de gezondheid neemt toe en zal in de komende jaren nog verder worden uitgebreid.

Wat zal de toekomst brengen? Het microbioomveld bevindt zich momenteel in een snelle, voortdurende transitie. Het ontwikkelt zich vanuit een onderzoeks- en ontdekkingsgebied en staat nu op de rand van de klinische toepassing. De voortdurende technologische verbeteringen en de wereldwijde inspanningen op het gebied van standaardisatie en replicatie zullen het succes van dit opwindende nieuwe vooruitzicht garanderen.

9. Exposomics

¹¹⁶ Vandeputte et al., 2017.

Definitie en beschrijving

In 2005 gebruikte kankerepidemioloog Christopher Wild de term exposoom om de milieutegenger van het genoom te beschrijven. De exposoom is een factor die van invloed is op de gezondheid. In een brede definitie beoordelen exposoomstudies de totaliteit van de blootstelling van de mens aan het milieu gedurende de gehele levensduur van een individu.

Er wordt een breed scala aan gezondheidsrelevante factoren beoordeeld. Dit bereik omvat genetische aanleg, epigenetische bevestiging van het DNA en levensstijlaspecten zoals roken, alcoholgebruik, dieet en lichaamsbeweging. De lijst gaat verder met de stofwisseling, de gastheermicrobiota, de binnen- en buitenomgeving, sociaaleconomische factoren en het vermogen van het individu om met verschillende stressfactoren om te gaan. Deze stressfactoren omvatten lawaai, infecties, mentale en fysieke stress.

De belangrijkste facetten van het exposoom kunnen, ongeacht de veelheid aan definities tot nu toe, als volgt worden beschreven. In een exposoomstudie moet een veelvoud aan blootstellingen worden gemeten tijdens gevoelige menselijke ontwikkelingsvensters over de gehele levensduur. Zo is bijvoorbeeld het dieet een aspect dat verandert met de leeftijd. Nieuwgeborenen worden gevoed met (moeder)melk en zuivelproducten. Zelfs deze kunnen echter stoffen uit het milieu bevatten, zoals dioxines, producten die in vet oplossen en hormoonschadelijke stoffen die via zuigelingenvoeding in de baby terechtkomen. Als ze peuters zijn, kruipen de kinderen over de vloer en proberen ze allerlei oneetbare voorwerpen in hun mond te stoppen - en mogelijk slikken ze deze zelfs in. Kinderen zijn gevoeliger dan volwassenen. De opname van giftige stoffen kan bijzonder ernstige gevolgen hebben. Een bekend voorbeeld is loodvergiftiging onder kleuters na het eten van loodhoudende verfschilders.

De blootstelling kan enorm verschillen tijdens het leven en tussen individuen, los van het feit dat specifieke culturele verschillen ook van invloed zijn. Bijgevolg is er behoefte aan een hiërarchische gegevensverzameling om milieublootstelling op zowel individueel als macroniveau vast te leggen. Begeleidende modelleringsmethoden voor blootstellingen zijn nodig, ook zonder specifieke biomarkers. Tot slot erkent een exposoomstudie het dynamische karakter van de blootstellingen en de lichamelijke reacties en fenotypische veranderingen die ze teweegbrengen¹¹⁷.

Het gevolg hiervan is dat het onderzoek veel moet omvatten. Dit begint met een breed scala aan mobiele blootstellingssensoren, om bijvoorbeeld luchtkwaliteit, temperatuur, geluid, UV, locatie en fysieke activiteit te meten. Het gaat om analytische methoden, waaronder omics-technologieën en -instrumenten om de blootstelling, (vroegtijdige) gezondheidseffecten en gevoeligheid te beoordelen. De leefomgeving is belangrijk. Die wordt opgenomen in parameters zoals beloopbaarheid (de maatstaf voor voetgangsvriendelijkheid), natuurlijke ruimte, landgebruik, rijkdom aan faciliteiten, straatconnectiviteit en verkeer¹¹⁸. Er wordt ook rekening gehouden met het welzijn, in termen van emotionele status. Dit wordt gemeten in real-time elektronische enquêtes die via mobiele telefoons worden aangeleverd. De aanpak staat bekend als 'Ecological Momentary Assessment' (EMA)¹¹⁹.

Het algemene idee is dat blootstelling tijdens specifieke delen van het leven zich in de loop van de tijd opstapelt en een belangrijke bijdrage kan leveren aan de ontwikkeling van chronische ziekten die grote maatschappelijke en economische kosten met zich meebrengen¹²⁰. 'Environment-Wide Association Studies' (EWAS) correleren de blootstelling aan milieugerelateerde stressfactoren met

¹¹⁷ Buck Louis et al. 2017.

¹¹⁸ Robinson et al., 2018.

¹¹⁹ Dunton, Liao, Intille, Wolch, & Pentz, 2011.

¹²⁰ Liyo & Rappaport, 2011.

gezondheidsfactoren¹²¹. Dit is analoog met eerdere Genome-Wide Association Studies (GWAS) die genetische polymorfismen met menselijke ziekten correleren.

Meer recentelijk is in epidemiologische studies de interactie tussen genen en omgeving in relatie tot het effect geëvalueerd via 'Genome-Environment-wide Interaction Studies' (GEWIS). Een voorbeeld hiervan is de studie van de interactie tussen genen en roken versus longkanker¹²². In dit soort studies wordt het stressfactoreffect geëvalueerd afhankelijk van de genetische achtergrond van een individu. Anderzijds werd vastgesteld dat een genvariant alleen onder bepaalde omgevings- of gedragsomstandigheden tot een klinisch fenotype zal leiden¹²³.

Geavanceerde technische mogelijkheden

Onderzoek naar de causale mechanismen die ten grondslag liggen aan de gezondheidseffecten van blootstelling aan het milieu is uitgevoerd in drie grote, door de EU gefinancierde proefprojecten van het zevende kaderprogramma (KP7). Het 'Human Early-Life Exposome' (HELIX, 2013-2017) omvatte zes bestaande Europese geboortecohortstudies. Het beoordeelde de blootstellingsmodellen voor de volledige cohorten van in totaal 32.000 moeder-kindparen. Biomarkers werden gemeten in een subset van 1.200 moeder-kindparen. In geneste panelstudies met herhaalde monsterneming (N=150) werden gegevens verzameld over de variabiliteit van de biomarkers. Smartphonegegevens werden gebruikt om de mobiliteit en fysieke activiteit te beoordelen en om persoonlijke blootstellingsmonitoring te verrichten. Metabolomics, proteomics, transcriptomics en epigenomics werden gebruikt om moleculaire profielen te bepalen die verband hielden met blootstellingen. Statistische methoden voor meervoudige blootstellingen verschafften schattingen van de blootstellingsrespons voor de groei van de foetus en het kind, obesitas, neurologische ontwikkeling en ademhalingsresultaten¹²⁴.

Een ander EU-FP7-project, 'Health and Environment-wide Associations based on Large Population Surveys' (HEALS, 2013-2018), omvat verschillende epidemiologische studies met een totaal van 335.000 Europese personen. De HEALS-pilot 'European Exposure and Health Examination Survey' (EXHES) maakte hier deel van uit. Multi-omics-resultaten en geo-gerefererde blootstellingsanalyses worden verwacht. Verder werd een levenslange generieke PBPK-modellering ('Physiologically Based Pharmacokinetic') uitgevoerd om de biologisch effectieve dosis in het doelweefsel te onderzoeken¹²⁵.

Het derde EU KP7-project kreeg de naam 'Transcriptomical Responses to Air and Water Pollution' (EXPOsOMICS, 2012-2016). Het richtte zich op lucht- en watervervuiling en de gevolgen daarvan. Blootstellingsmodellen en persoonlijke blootstellingsbeoordelingen werden uitgewerkt, zoals 'Land Use Regression'-modellen voor het oxidatiepotentieel van PM_{2.5} (fijne deeltjes met een diameter van 2,5 µm of minder) in vijf Europese steden¹²⁶. Onderzoekers werkten daarnaast tevens aan statistische evaluaties van omics-data. Een voorbeeld hiervan is de studie waarin de verstoring van metabole paden in verband wordt gebracht met volwassen astma en cardio-cerebrovasculaire aandoeningen met behulp van de 'meet-in-the-middle' statistische benadering¹²⁷.

In 2015 lanceerde het Amerikaanse National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS) de studie 'Children's Health Exposure Analysis Resource' (CHEAR). Het werd opgezet om de analyses van blootstelling aan het milieu op jonge leeftijd in hun gezondheidsstudies te verbreden.

¹²¹ Een voorbeeld is de correlatie tussen 266 omgevingsfactoren versus de bloedsuikerspiegel bij diabetici. (Patel, Bhattacharya, & Butte, 2010).

¹²² Zhao, Fan, Goodman, Radich, & Martin, 2015.

¹²³ Barouki, Audouze, Coumoul, Demenais, & Gauguier, 2018.

¹²⁴ Vrijheid et al., 2014.

¹²⁵ Steckling et al., 2018.

¹²⁶ Gulliver et al., 2018.

¹²⁷ Jeong et al., 2018.

De vroege stadia richtten zich op de ontwikkeling van normen en kwaliteitsborging om de reproduceerbaarheid van doelgerichte en niet-doelgerichte biomarkeranalyses te verbeteren. Deze studie richtte zich ook op het creëren van een data repository voor gezondheidsgegevens en omics data. Toekomstperspectieven omvatten het verkennen van de bijdrage van het exposoom en de multi-omics-integratie voor mechanistisch onderzoek en systeembioïologie. Enkele van de belangrijkste directe uitdagingen in hun exposoomonderzoeksprogramma omvatten: samengestelde identificatie uit ongerichte analyses, toegankelijkheid van gegevens voor verdere analyses en het gebruik van het exposoomconcept als een instrument voor preventie¹²⁸.

Sinds 2001 hebben vier 'Flemish Environment and Health Surveys' (FLESH)¹²⁹ om de vijf jaar verschillende verontreinigende stoffen in het bloed, de urine en het haar van de bevolking geëvalueerd. In dit FLEHS-programma werden tot nu toe 6.870 personen opgenomen. Alle Vlaamse Universiteiten en het Provinciaal Instituut voor Hygiëne (PIH) Antwerpen zijn partners in het consortium *Steunpunt Milieu en Gezondheid*. Dit programma is ingebed in het European Human Biomonitoring Consortium¹³⁰. Het heeft tot doel de chemische veiligheid in Europa te verbeteren via blootstellingsmonitoring in 28 Europese landen. Hoewel de exposoomaanpak en de volledige karakterisering van 'alle' chemicaliën via omics analytics niet werd toegepast in de Vlaamse 'Background Population Human Biomonitoring'-studies, werden toch iets minder dan honderd chemicaliën geanalyseerd in alle leeftijdsgroepen van de FLEHS 2-, 3- en 4-campagnes¹³¹.

De meeste van de genoemde studies zijn transversaal, beoordelen de blootstelling in de Vlaamse achtergrondpopulatie en enkele 'hot spots'. De studies leggen een verband tussen blootstelling en ziekte en gezondheidsklachten. Binnen sommige delen van deze FLEHS-cohorten en in het Vlaamse regionale ENVIRONAGE werden geboortecohorten op veroudering, transcriptomics en epigenetische analyses uitgevoerd. Enkele voorbeelden: regionale verschillen in genexpressie van oxidatieve stress en metabolisatiegenen gemeten bij FLEHS-volwassenen konden worden gerelateerd aan inwendige metalen en persistente vervuilingsniveaus¹³²; kwik in FLEHS adolescenten werd gekoppeld aan expressie van genen die een rol spelen in het neurofunctioneren¹³³; in het ENVIRONAGE cohort werden genexpressie van ontsteking, neurologische ontwikkeling en DNA-schade gerelateerde genen geassocieerd met ofwel lange ofwel korte termijn blootstelling aan fijnstof in de buitenlucht bij kinderen¹³⁴.

Klinische toepassingen

In overeenstemming met de systeemgeneeskundige benadering wordt voorgesteld het genoom en de blootstellingsgegevens te integreren in een systeembioïologische benadering¹³⁵. Dit exposoomgenoomparadigma staat voor data-integratie met als doel de preventie en gezondheid op bevolkingsniveau en zelfs op individueel niveau te verbeteren.

Blootstellingsevaluatie in de context van allergieën en de gezondheid van de luchtwegen vanaf de geboorte tot aan de vroege kinderjaren zijn mooie voorbeelden van een klinisch nuttig gebruik van het exposoom bij het ontrafelen van de etiologie van een ziekte. Binnen verschillende gebundelde analyses van internationale geboortecohorten werden verschillende aspecten van het exposoom

¹²⁸ <https://chearprogram.org/chear-publications>

¹²⁹ FLEHS 1, 2, 3, 4.

¹³⁰ HBM4EU (2012-2017).

¹³¹ Schoeters et al., 2017.

¹³² Van Leeuwen et al., 2008.

¹³³ Croes et al., 2014.

¹³⁴ Winckelmans et al., 2017.

¹³⁵ Barouki et al., 2018.

bestudeerd. Zo bleek bijvoorbeeld dat de visinname van de moeder geen invloed had op de astma of allergische rhinitis van het kind¹³⁶.

In dit soort internationale gegroepeerde data- en meta-analysestudies werd het Belgische FLEHS-geboortecohort opgenomen voor zijn meervoudige beschikbare blootstellingsparameters. Dergelijke 'exposoomachtige' studies bestrijken evenwel slechts delen van de levensduur of de blootstelling. Toch wijzen deze studies op factoren die luchtwegaandoeningen veroorzaken, zoals verkeersblootstelling, (binnenhuis)allergenen en micro-organismen¹³⁷. Er worden ook exposoomrespiratoire gezondheidsonderzoeken uitgevoerd bij patiënten. Onlangs werd aangetoond dat het metaalgehalte van fijnstof binnenshuis (PM_{2.5}) in verband kan worden gebracht met een lager geforceerd expiratoir volume in één seconde (FEV₁) bij longtransplantatiepatiënten¹³⁸.

Ook het verloop van metabolische en cardiovasculaire aandoeningen wordt onderzocht, waarbij rekening wordt gehouden met aspecten van het exposoom. Er werd een analyse van de gegevens van vier cohorten van het 'National Health and Nutrition Examination Survey' (NHANES) van 1999 tot 2006 uitgevoerd om de relatie tussen 266 verschillende omgevingsfactoren en diabetes type 2 te beoordelen¹³⁹.

In een verdere studie werden achttien 'Single-Nucleotide Polymorfismen' (SNP's) en vijf omgevingsfactoren gescreend op interactie in associatie met diabetes type 2. De verminderde functie van SLC30A8, het moduleren van de insulinesecretie en de opslag in bètacellen van alveesklieereilandjes, vertoonde een significante interactie met trans-bèta-caroteen. Een onbevooroordeelde beschouwing van milieu- en genetische factoren kan helpen om grotere en meer relevante effectgroottes voor ziekte-associaties te identificeren¹⁴⁰.

Net zoals ze sommige milieufactoren omvatten, kunnen exposoomstudies eveneens milieufactoren uitsluiten om met een resultaat in verband te worden gebracht. Dit werd aangetoond met bloeddruk gemeten bij 71.916 personen van de NHANES-studies. Daarbij bleek dat een hoge bloeddruk nauwelijks in verband kon worden gebracht met een van de onderzochte milieuparameters¹⁴¹.

Toekomstperspectieven

Het menselijke exposoom is een opkomend onderzoeksgebied dat zich richt op het ontcijferen van de manier waarop milieublootstellingen (voeding, levensstijl, beroeps- en omgevingsfactoren) gedurende ons leven onze gezondheid beïnvloeden. Als we dit begrijpen, kunnen we betere acties voor ziektepreventie en gezondheidsbevordering opzetten. Dit is het toepassingsgebied van het European Human Exposome Network, dat bestaat uit negen onderzoeksprojecten die nu in het kader van Horizon 2020 worden gefinancierd. Binnen het Human Exposome Network werden 9 H2020-exposoomprojecten goedgekeurd (<https://www.humanexposome.eu/>). De focus ligt op een specifiek aspect van het menselijk exposoom: specifieke gezondheidsresultaten (immuunsysteem, geestelijke gezondheid, longziekten, cardio-metabolische ziekten) of focust op specifieke blootstelling (stedelijke omgeving, werkomgeving). Ook nieuwe methodologieën en analyses zijn essentieel. We moeten streven naar nieuwe tools (sensoren, voedingsapplicaties, omics, geospatiale gegevens) om het exposoom meer in detail te kunnen beoordelen.

Verschillende centra zijn betrokken bij diverse exposoomprojecten zoals EPHOR ('Exposome Project for Health and Occupational Research'), EXIMIOUS ('Mapping exposure-induced immune

¹³⁶ Stratakis et al., 2017.

¹³⁷ Burbank et al., 2017; Khreis et al., 2018; Koppen et al., 2011.

¹³⁸ North et al., 2018.

¹³⁹ Patel et al., 2010.

¹⁴⁰ Patel et al., 2013.

¹⁴¹ McGinnis et al., 2016.

effects: connecting the exposome and the immunome') en ATHLETE ('Better understanding and preventing health damage from multiple environmental agents and their mixtures, from the earliest parts of the life course onward') Binnen EPHOR zal de basis worden gelegd voor empirisch onderbouwde en kosteneffectieve preventieve maatregelen ter verbetering van de gezondheid op het werk door de ontwikkeling van een werklevens-exposoomtoolbox teneinde de ziektelast te verminderen.

Daarnaast werd onlangs voorgesteld om exposomics in de precisie- en systeemgeneeskunde op te nemen¹⁴². In deze aanpak worden patiëntenspecifieke kenmerken voorspeld voor een betere beoordeling van gezondheid en therapie. Het zou passen in de context van de systeemgeneeskunde of de 'integrative Personal Omics Profiling' (iPOP) om multi-omicsgegevens te integreren voor een uitgebreidere analyse van de etiologie van de ziekte.

Er zijn gelovers en niet-gelovers van het exposoomconcept. Los van het al dan niet geloven is het duidelijk dat er enige moeilijkheden zijn bij het uitvoeren van de totale exposoomanalyse van een persoon. Het beoordelen van de omvang van de blootstelling van de mens via verschillende wegen en bronnen is weliswaar aantrekkelijk, maar wordt beperkt door de beschikbaarheid van specifieke biomarkers voor de blootstelling¹⁴³. 'Suspect Chemical Screening' en een echte niet-gerichte analyse zijn echter wel haalbaar. De eerste zoekt naar analyten op basis van een vooraf gespecificeerde lijst van verdachte of beoogde chemische stoffen. Deze aanpak kan in dit stadium beter doenbaar blijken dan het willekeurig zoeken naar schadelijke stoffen¹⁴⁴.

Er dient opgemerkt dat elke vorm van transversale analyse van chemische stoffen slechts een specifieke momentopname van de werkelijke blootstelling kan weergeven. Herhaalde bemonstering zou zeker een pluspunt zijn. Soortgelijke zorgen gelden voor het omics-datadomein als het gaat om het ontbreken van gouden standaarden voor de beoordeling van omics-data. Dit leidt soms tot tegenstrijdige resultaten. Herhaalde experimenten gaan gepaard met het nadeel van hoge kosten. Een ander punt van zorg zijn de verschillende nauwkeurigheidsniveaus van omics- en niet-omics-gegevens¹⁴⁵. Bovendien vraagt de methode om voldoende gegevensopslag- en rekencapaciteit. Een platform voor gegevensuitwisseling zou ook welkom zijn. Ten slotte is er het risico van overinterpretatie. Dit risico wordt deels veroorzaakt door een beperkt begrip van biologische en op elkaar inwerkende paden¹⁴⁶.

Het bestuderen van de relatie of interactie tussen blootstellingen, genetische achtergrond en gezondheid is niet nieuw, maar de combinatie van een aantal endogene en exogene invloeden moet worden gemaakt en kan nu met behulp van omics uitgebreider gebeuren en op granular niveau worden verricht. Bovendien kan men door de onderliggende mechanismen te bestuderen, te bepalen en op te helderen, de ontwikkeling en het verloop van ziekten beter begrijpen en de oorzaken en bijdragende factoren identificeren.

10. Big data en artificiële intelligentie

Definitie en beschrijving

Moderne omics-methodologieën leveren stevast 'big data' op. Deze gegevens vereisen robuuste kwaliteitscontrole- en analysepijplijnen, databeheer, langetermijnopslag, nationaal gecentraliseerde gegevenstoegang en effectieve beveiligings- en privacyrichtlijnen. Deze bio-informatica- en gegevensbeheeraspecten vormen een grote uitdaging.

¹⁴² Barouki et al., 2018.

¹⁴³ Steckling et al., 2018.

¹⁴⁴ Wang et al., 2018.

¹⁴⁵ Zhao et al., 2015.

¹⁴⁶ Vineis et al., 2017.

Daarnaast is er ook een groeiende behoefte aan machinaal leren en artificiële intelligentie (AI). Diepgaand leren maakt deel uit van de bredere familie van machinaal leren en AI-benaderingen. Het is gebaseerd op het leren van data-representaties¹⁴⁷. Het maakt het mogelijk om complexere kenmerken in de gegevens te gebruiken die normaal gesproken voor het menselijk oog verborgen blijven. Het doet dit door het in kaart brengen van ruwe input in lagen van tussenliggende functies. De aanpak maakt zelfleren mogelijk: voortdurende geleidelijke verbetering van de besluitvorming naarmate er in de loop van de tijd meer en meer nieuwe gegevens worden toegevoegd.

Wat betreft de opkomst van big data en AI in het algemeen, vallen twee kenmerken op. Er wordt tegen een ongelooflijke snelheid vooruitgang geboekt en het heeft een vergaande impact op meerdere maatschappelijke niveaus. In 2012 werden artificiële neurale netwerken nog als doodlopend onderzoek beschouwd. Dat was zo totdat Geoffrey Hinton en Alexander Krizhevsky van de Universiteit van Toronto hun artikel 'ImageNet Classification with Deep Convolutional Neural Networks'¹⁴⁸ publiceerden. Beeldherkenning met neurale netwerken in combinatie met het gebruik van snelle computers heeft een sprong voorwaarts mogelijk gemaakt ten opzichte van de traditionele algoritmen. Big Tech sprong mee op de kar. Tegen 2015 was de computer al beter in gezichtsherkenning dan de mens. Big Tech introduceerde in datzelfde jaar geautomatiseerde fototagging in de praktijk. Daarvoor was tweeënhalve jaar nodig, van een fundamentele doorbraak naar een praktische toepassing, mogelijk gemaakt door big data, verbeterde rekenkracht en cloudopslag. Deze snelheid van vooruitgang van ontdekking naar toepassing is in de meeste wetenschappen onvoorstelbaar. Een daarvan is de medische wetenschap, waar de weg naar een toepassing een uitgebreid traject van proeven in meerdere fasen vereist, dat doorgaans meer dan een decennium in beslag neemt.

Sinds deze eerste dagen begint de potentiële impact van big data in combinatie met artificiële intelligentie op de veiligheid, de industrie, de beleidsvorming en vele andere gebieden duidelijk te worden. Elk veld waar veel gegevens worden gegenereerd en een zichzelf verbeterende patroonherkenning in deze gegevens relevant is, voelt nu al de impact van AI of zal dat binnenkort doen.

Op dit moment worden er meer gegevens gegenereerd in twee dagen dan tijdens de eerste twee millennia van ons tijdperk. Omics-gegevens dragen daar in belangrijke mate toe bij. Omics-technologieën zijn in feite zeer geschikt voor 'Deep Learning' vanwege de enorme hoeveelheden gegevens die ermee gemoeid zijn. Naast beeldvorming zullen deze gegevens dienen als de belangrijkste drijfveren achter AI in de gezondheidszorg. Zij zullen de belangrijkste 'inputs' zijn voor onze virtuele avatarcoach die in de niet zo verre toekomst zal opduiken.

Geavanceerde technische mogelijkheden

Bio-informatica-analyse van de volgende generatie sequencinggegevens

Next-Generation Sequencing (NGS) wordt in de kliniek gebruikt voor een toenemend aantal toepassingen. Het meest toegepast is DNA-sequencing. Dit kan ofwel gerichte sequencing van genpanels, sequencing van volledige exomen of oppervlakkige sequencing van volledige genomen omvatten om variaties in het kopieergetal te detecteren. Het kan ook gaan om 'Deep Whole Genome Sequencing' om alle soorten mutaties en variaties in kopieergetal te detecteren.

De bijhorende bio-informatica pijpleidingen, bijvoorbeeld in het UZ Leuven, zijn geoptimaliseerd voor een snelle en accurate detectie van genomische variatie. Zo'n pijpleiding bestaat meestal uit meerdere stappen. Het begint met het voorbereiden van de ruwe gegevens en wordt gevolgd door het in kaart brengen van de sequentie die wordt uitgelezen ten opzichte van het referentiegenoom,

¹⁴⁷ In tegenstelling tot taakspecifieke algoritmen.

¹⁴⁸ Hinton & Krizhevsky, 2012.

het oproepen en filteren van varianten, de annotatie van varianten en de rapportering. Een hele genomesequentie met een dertigvoudige dekking ¹⁴⁹leidt tot 120 GB aan gegevens. Dit vergt doorgaans één tot drie dagen CPU-tijd. Dit vormt een uitdaging zodra de doorvoercapaciteit zal toenemen. Andere soorten omics-data, zoals transcriptomics en epigenomics maken eveneens gebruik van NGS en vereisen hun eigen specifieke bio-informaticapijpleidingen.

Klinische toepassingen van deze omics-technieken zijn tot op heden nog beperkt. Er wordt echter verwacht dat klinische toepassingen die gebruikmaken van multi-omics-data ongekende mogelijkheden zullen bieden, zoals in verschillende hoofdstukken van dit rapport wordt aangegeven. Om resultaten te krijgen in het kader van deze mogelijkheden is het nodig dat bio-informaticapijpleidingen meerdere heterogene datasets integreren. Dit gaat gepaard met een ideale greenfield-situatie voor de introductie van AI.

Hardware en software voor omics-gegevensanalyse in België

Bio-informatica-analyse van omics wordt uitgevoerd via cloud computing of via high-performance computing (HPC). De Vlaamse Supercomputer in het *Vlaams Supercomputer Centrum (VSC)* in Leuven biedt een goede computeromgeving voor omics-gegevensanalyse. Een nieuwe financieringsronde van de Vlaamse regering zal worden gebruikt om een nieuwe 'Tier1'-supercomputer met cloud-computingmogelijkheden te bouwen. Dit zal de mogelijkheden voor de analyse van omics-data verder uitbreiden. De nieuwe 'Tier2' Genius-supercomputer van het VSC beschikt momenteel over twintig knooppunten met grafische verwerkingseenheden (GPU's) die bij uitstek geschikt zijn voor Deep Learning (AI).

Met betrekking tot software voor het beheer van analysepijpleidingen en dataherkomsten wordt ervan uitgegaan dat frameworks zoals Arvados en Common Workflow Language (CWL) noodzakelijk zullen worden. Voor zover bekend hebben Belgische onderzoeksgroepen en klinieken deze nieuwe technologieën nog niet verkend. Nu cloud computing steeds vaker wordt gebruikt, zullen 'containers' zoals Docker en Singularity ongekende mogelijkheden bieden om bio-informaticapijpleidingen flexibel te delen en te beheren.

Big Data en AI in de klinische praktijk

Op wereldschaal is de geneeskunde een van de maatschappelijke domeinen waar Big Data en AI al een grote impact hebben. In tal van klinische specialisaties bestaan er klinische toepassingen. Clinici maken voornamelijk gebruik van AI voor een snelle en nauwkeurige beeldinterpretatie. In de gezondheidsstelsels wordt de workflow verbeterd en wordt het potentieel voor het verminderen van medische fouten benut. En ten derde worden patiënten in staat gesteld hun eigen gegevens te verwerken om de gezondheid te bevorderen¹⁵⁰.

Massale hoeveelheden gegevens van medische beeldvorming, biosensoren van fysiologische meeteenheden, genomesequentiebepaling en elektronische medische dossiers overschrijden de grens van de menselijke analyse. "Algoritmen zijn hard nodig als hulp, maar de integratie van menselijke en artificiële intelligentie voor de geneeskunde is nog maar net begonnen"¹⁵¹. Big Data en AI zouden ingezet kunnen worden om de trend naar een beter rendement op investeringen in de gezondheidszorg om te buigen. En dat zal zo gebeuren, volgens Eric J. Topol: "Bijna elk type

¹⁴⁹ 'Whole-Genome Sequencing' houdt in dat elke basis in een genoom één keer wordt gesequencet, terwijl de meeste toepassingen vereisen dat elke basis meerdere keren wordt gesequencet om een hoge mate van vertrouwen in de basisoproepen te bereiken. Sequencingdekking (of sequencingdiepte) verwijst naar het aantal keren dat een referentiebasis wordt weergegeven binnen een reeks sequencing reads.

¹⁵⁰ Topol, 2019.

¹⁵¹ Topol, 2019 (p. 44).

clanicus (...) zal in de toekomst gebruikmaken van AI-technologie en in het bijzonder van Deep Learning"¹⁵².

Radiologie is een typisch toepassingsgebied voor AI. Een 'Deep Neural Network' (DNN) dat met terugwerkende kracht scans van meer dan 34.000 patiënten beoordeelt om kankerachtige longknobbeltjes op te sporen op een röntgenfoto van de borstkas, presteerde beter dan 17 van de 18 radiologen¹⁵³. In een vergelijkbare studie naar beeldanalyse van huidkanker werden 21 dermatologen minstens geëvenaard door het algoritme¹⁵⁴. Wat betreft AI en omics-data in de kliniek, wordt AI gebruikt om genomische varianten van 'Whole Genome Sequencing' te voorspellen en te interpreteren. De toekomst van AI in de kliniek zal waarschijnlijk de integratie van beeldvormingsgegevens met genomics-gegevens vertegenwoordigen, naast de medische voorgeschiedenis van de patiënt. Het resultaat zal een geïntegreerde, gepersonaliseerde gezondheidsevaluatie zijn, waarbij de AI conclusies met een toegevoegde waarde zal trekken op basis van deze drie gegevensbronnen.

De impact van big data en AI zal in de loop van de tijd snel toenemen. In het algemeen zullen in de moderne geneeskunde meer gegevens beschikbaar komen op meerdere tijdstippen en over verschillende ziektestadia van een individuele patiënt. Dit geldt ook voor alle andere patiënten met vergelijkbare aandoeningen. Dit gebeurt in verschillende ziekenhuizen in verschillende landen. Het machinaal leren, gebaseerd op omics en klinische gegevens, zal daarom waarschijnlijk de nauwkeurigheid in de loop van de tijd verbeteren. De algemene regel bij Big Data en AI is: hoe meer gegevens, hoe nauwkeuriger, hoe meer waarde.

Stand van zaken in de biowetenschappen

Eric J. Topol stelt dat de vooruitgang van AI in de biowetenschappen zelfs aanzienlijk sneller is geweest dan de opname ervan in de kliniek. Als verklaring verwijst hij naar een uitgebreide peer-reviewed publicatie, een eenvoudigere validatie door gebrek aan regulerend toezicht en een gretige wetenschappelijke gemeenschap¹⁵⁵. Het AI-gebruik voor de ontdekking van geneesmiddelen is uitgebreid en omvat geavanceerde zoekopdrachten in natuurlijke taalverwerking van de biomedische literatuur, datamining in miljoenen moleculaire structuren, het ontwerp en de productie van nieuwe moleculen, dosisvoorspelling en de ontwikkeling van cellulaire tests op grote schaal¹⁵⁶.

Een opmerkelijke prestatie is de effectieve beoordeling van de biologische leeftijd met behulp van op DNA-methylatie gebaseerde biomarkers¹⁵⁷. Een andere mijlpaal was de ontwikkeling van in-silico-etikettering, met behulp van machinaal leren om de fluorescerende kleuring te vervangen¹⁵⁸. 'Ghost cytometry', een nauwkeurige sortering van cellen tegen een hoge doorvoersnelheid op basis van celmorfologie werd ontwikkeld om automatisch en nauwkeurig zeldzame cellen te identificeren¹⁵⁹. Computer vision wordt gebruikt voor de 'high throughput' beoordeling van 40-plex-eiwitten en organellen in een enkele cel¹⁶⁰.

Topol noemt ook specifiek omics-biologiedatasets: "Open source algoritmen werden ontwikkeld voor het classificeren of analyseren van hele genoompathogene varianten - een sterke toepassing voor de kliniek - , somatische kankermutaties, gen-gen interacties, RNA-sequencing data,

¹⁵² Topol, 2019 (p. 44).

¹⁵³ Nam et al., 2018.

¹⁵⁴ Esteva et al., 2017.

¹⁵⁵ Topol, 2019 (p. 50).

¹⁵⁶ Topol, 2019 (p. 51).

¹⁵⁷ Horvath & Raj, 2018.

¹⁵⁸ Christiansen et al., 2018.

¹⁵⁹ Ota et al., 2018.

¹⁶⁰ Gut et al., 2018.

methylering, voorspelling van eiwitstructuur en eiwit-eiwit interacties, het microbioom, en enkelcellige sequencing. Hoewel deze rapporten over het algemeen één enkele omics-aanpak hebben voorgesteld, worden er nu multi-omgevingsalgoritmen ontwikkeld die de datasets integreren. Het gebruik van genoombewerking is ook vergemakkelijkt door de algoritmische voorspelling van CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) die de RNA-activiteit en off-target activiteiten sturen".¹⁶¹

Deep Learning, AI en data-eigendom

De revolutie van 'Deep Learning' of diepgaand leren in de biogeneeskunde is net begonnen. Zoals eerder al gezegd is de toepassing van AI in biomedisch onderzoek wijder verbreid dan in de kliniek. AI op omics-data wordt momenteel intensief gebruikt in onderzoek naar varianten die een beroep doen op NGS-data en metagenomics-toepassingen. De verwachting is dat, zodra omics-technieken op grotere schaal worden gebruikt in klinische toepassingen, er een diepgaand leerproces op het gebied van omics-gegevens zal plaatsvinden en dat het meer mainstream zal worden in de kliniek. Tot slot zal AI een impact hebben op de behandeling van de ziekte, met name wat betreft de klinische besluitvorming in de gepersonaliseerde gezondheidszorg.

Daar zijn ook al voorbeelden van. In 2017 bezoekt een 37 jaar oude Japanse vrouw een oncologiekliniek in de VS. Ze lijdt aan een zeldzame variant van borstkanker. De oncologen diagnosticeren haar als onbehandelbaar, met een verwachte levensduur van slechts twee jaar. De IBM Watson Oncology Advisor¹⁶², die Big Data en AI combineert, komt echter tot een heel andere conclusie. Het relateert haar specifieke kwaadaardige mutatie aan andere soorten tumoren, beschikbare (experimentele) geneesmiddelen en behandelingsmethoden. De voorgestelde behandeling voorspelde een kans van 95% op herstel¹⁶³.

Dit voorbeeld werd niet alleen gekozen als verwijzing naar AI-mogelijkheden. Ziekenhuizen trekken zich terug uit het Watson-project, niet wegens gebrek aan resultaat, maar uit dataveiligheidsoverwegingen. Biologische gegevens zijn afkomstig van patiënten, kennis wordt verzameld bij artsen, maar op deze gegevens draaien algoritmen die in private handen zijn. De vraag of Big Tech met deze gegevens te vertrouwen is, beantwoordt zichzelf intussen bijna. Ziekenhuizen streven daarom naar open source AI-oplossingen en nationaal gecentraliseerde datatoegang.

Zwarte doos? Niet noodzakelijkerwijs.

Een uitdaging met betrekking tot het gebruik van 'Deep Learning'-benaderingen is het interpretatie-aspect. Stel dat heterogene gegevens in één systeem kunnen worden ingepast en dat de nauwkeurigheid van nieuwe voorspellingen in klinische toepassingen kan worden verbeterd. Hoe kwam de computer tot deze voorspelling? Het zal absoluut noodzakelijk zijn dat het besluitvormingsproces van de machine transparant is en kan worden gevolgd. Dit verwijst naar het zogenaamde 'recht op uitleg'. Wanneer machinaal leren wordt gebruikt, moet de arts in staat zijn om uit te leggen hoe de machine tot zijn beslissing is gekomen, zo wordt gezegd. Sommigen zeggen daarom dat het niet moet worden gebruikt.

¹⁶¹ Topol, 2019 (p. 50).

¹⁶² <https://www.ibm.com/us-en/marketplace/ibm-watson-for-oncology>

¹⁶³ Professor Ruud Veltman, een filosoof, verwijst vaak naar IBM Watson, bijvoorbeeld:

<https://facto.nl/ruud-veltenaar-samenvatting-lezing>.

En: van der Ent, 2018

¹⁶⁴ Datawetenschapper dr. Egge van der Poel van Erasmus Rotterdam Medisch Centrum, legt uit op

<https://www.harmony-alliance.eu/en/patients>.

Er zijn twee mogelijkheden om deze kwestie aan te pakken. De eerste is het gebruik van Big Data zonder zwartedoos-AI. In dat geval worden de Big Data alleen gebruikt als een middel om de kennis van één professional te verbinden met die van vele andere professionals. Big Data kan ook zonder AI worden gebruikt om meer en sneller te leren, als onderdeel van het medische besluitvormingsproces, op basis van de bereidheid om samen te werken en gegevens te delen¹⁶⁴. Net als met AI kan ook Big Data al door middel van menselijke verwerking worden gebruikt voor een continue 'handelen - meten - leren'-cyclus van verbetering.

Naast dit gebruik van Big Data als zelfstandige entiteit (of als eerste stap naar een combinatie met AI), is er ook een andere benadering om het probleem van de 'black box'-ethiek aan te pakken. In veel gevallen is er de mogelijkheid om retrospectieve gegevens te gebruiken teneinde de mate van nauwkeurigheid van AI-uitkomsten (meestal aangegeven als 'Area Under the Curve' (AUC)) te beoordelen en deze uitkomsten te vergelijken met reguliere diagnoses. Wanneer 'black box AI'-resultaten gemiddeld (veel) beter blijken te zijn dan een op menselijke redenering gebaseerde diagnose, kunnen we het ons dan veroorloven om de resultaten buiten beschouwing te laten?

Impact van AI op de gezondheidszorg

Artificiële intelligentie kan de gezondheidszorg op verschillende manieren radicaal veranderen. Zo komt het creëren van directe interfaces tussen AI en de menselijke geest binnen handbereik dankzij de overeenkomst tussen Deep Neural Networks en de manier waarop ons brein werkt. AI zou zo patiënten met neurologische aandoeningen en trauma's aan het zenuwstelsel kunnen helpen. De combinatie van 'Brain-Computer Interfaces' (BCI's) en AI kan bijvoorbeeld de neurale activeringen die gepaard gaan met de bewuste beweging of spraak van een patiënt decoderen. Het zou een patiënt daardoor in staat kunnen stellen om te bewegen of te communiceren zoals hij of zij voorheen deed.

Ten tweede zou AI de volgende generatie van radiologie-instrumenten nauwkeuriger en gedetailleerder kunnen maken. Daardoor zou het de behoefte aan invasieve weefselmonsters bij patiënten kunnen vervangen. Tekorten aan opgeleide gezondheidswerkers, waaronder ultrasone technici en radiologen, zouden de toegang tot levensreddende zorg in ontwikkelingslanden over de hele wereld aanzienlijk kunnen beperken. AI zou dit echter kunnen helpen oplossen door menselijke taken over te nemen.

Bovendien zou AI de bureaucratische last kunnen verminderen. Elektronische gezondheidsdossiers (EHR's) zouden door de computer kunnen worden ingevuld in plaats van door verpleegkundigen en klinici. Deze dossiers zijn een goudmijn aan patiëntgegevens die misschien alleen met de steun van AI nauwkeurig en effectief kunnen worden verwerkt. De kliniek zou dus ook veel meer voordeel kunnen halen uit deze gegevens dan nu het geval is, door ze om te zetten in betrouwbare risicovoorspellers. Er zijn enorme mogelijkheden om automatisch nieuwe interessante kenmerken van pathologiebeelden te identificeren. AI zou nieuwe biomarkers kunnen ontdekken uit grote klinische en omics-datasets. Waardevolle beoordelingen zouden kunnen worden afgeleid uit het monitoren van de gezondheid door middel van wearables en geïmplanteerde persoonlijke medische hulpmiddelen. Smartphoneselfies zouden omgezet kunnen worden in krachtige diagnostische hulpmiddelen. Het aantal toepassingen waarin AI zich ontwikkelt, lijkt eindeloos te zijn.

Omics-data geven het functioneren van ons lichaam weer op het meest gedetailleerde niveau, het moleculaire niveau. Deze gegevens zijn dus onmisbaar voor het begrijpen van een pathologie. Ze kunnen dan ook een enorme toegevoegde waarde hebben voor AI-toepassingen in de gezondheidszorg. Omics-gegevens zouden de basis kunnen vormen voor een geïntegreerde AI-aanpak, waaraan andere medische of persoonlijke gegevens van biosensoren, over geestelijk welzijn, medische geschiedenis, medicatie, beeldvorming, enz. worden toegevoegd. AI biedt de

mogelijkheid om kennis en inzichten te ontleen aan de enorme hoeveelheden data die in zo'n aanpak bij elkaar worden gebracht

Uitdagingen en kansen

Elke nieuwe analysemethode introduceert een reeks nieuwe variabelen die zoveel mogelijk gestandaardiseerd en gecontroleerd moeten worden. In het geval van 'Big Data'-analyses met behulp van een bio-informatica- of 'machine learning'-workflow, kan de hoeveelheid parameters snel groeien. Voorbeelden van dergelijke variabelen in een volgende generatie sequencinganalyse zijn de gebruikte versie van referentiegenoomassemblage of parameters die de gevoeligheid en specificiteit van variantoproepen bepalen. Bovendien zijn er veel 'verborgen' variabelen die de uitkomst kunnen beïnvloeden. De meeste beschikbare softwaretoepassingen maken gebruik van softwarebibliotheken van derden die aan de industriestandaard voldoen. Veranderingen in de onderliggende versies van dergelijke bibliotheken kunnen het resultaat van de analyse beïnvloeden.

De ontwikkeling van nieuwe workflows kan het best op een collaboratieve manier gebeuren om de compatibiliteit te garanderen. Kleine variaties in het genereren van gegevens tussen onderzoeksinstituten of ziekenhuizen kunnen de waarde van de uitkomsten schaden. Inzet van open data standaards en workflowoplossingen zou dit kunnen voorkomen. Vooral het voldoen van klinische gegevens en wetenschappelijke gegevens aan de FAIR-principes zou kunnen helpen. Dit betekent dat wetenschappelijke gegevens 'Findable, Accessible, Interoperable and Reusable' (vindbaar, toegankelijk, interoperabel en herbruikbaar) (FAIR) moeten zijn. Deze beginselen werden in 2016 door de EU omarmd en zijn nauw verbonden met het Europees initiatief voor een open wetenschapswereld ('European Open Science Cloud', EOSC) in 2017¹⁶⁵¹⁶⁶.

Het zou ook zorgen voor een eenvoudige uitbreiding met nieuwe hulpmiddelen en een aanpassing aan nieuwe gegevenstypes en -sites. Tijdens de ontwikkeling kan de iteratieve analyse van referentiedatasets en de ruimteverkenning van parameters worden gebruikt om de robuustheid van de workflow voor wijzigingen in de analyseparameters te bepalen.

Uitdagingen met betrekking tot compatibiliteit stapelen zich op wanneer analyseworkflows op meerdere plaatsen moeten worden ingezet, met name wanneer wordt gewerkt aan de integratie van gegevens op tal van verschillende locaties. Om te zorgen voor een consistent en robuust resultaat in elke analyse-workflow, moet rekening worden gehouden met een aantal aanbevelingen. De eerste is het inzetten en delen van softwarecontainers, virtuele machines of cloudafbeeldingen om zoveel mogelijk consistentie te garanderen. Bovendien moet er een robuust schema voor kruis analyse van datasets tussen de verschillende sites bestaan om consistente resultaten te garanderen. Een schema voor de heranalyse van bekende referentiedatasets moet de compatibiliteit en consistentie van de resultaten verder garanderen.

Een groot voordeel van het ontwikkelen van klinische gegevensanalyses op deze manier is dat de gegevens beter uitwisselbaar zijn tussen de sites, met een minimale vertekening. Het verstrekken van meer gegevens van betere kwaliteit zal de methoden voor machinaal leren dus enorm

¹⁶⁴ <https://ec.europa.eu/research/openscience>

¹⁶⁵ Verklaring van het EOSC: MET ERKENNING van de uitdagingen van gegevensgestuurd onderzoek bij het nastreven van een uitmuntende wetenschap; IN DE OVERTUIGING dat de visie van de Europese open wetenschap die is van een op lange termijn duurzaam gemeenschappelijk onderzoeksgegeven, dat alle disciplines en lidstaten omvat; BEVESTIGEND dat de uitvoering van het EOSC een proces is, en geen project, dat van nature iteratief is en gebaseerd is op voortdurend leren en onderlinge afstemming; BEVESTIGEND dat de EOSC-top het begin en niet het einde van dit proces markeerde, dat gebaseerd is op een voortdurende betrokkenheid van de wetenschappelijke belanghebbenden; BEVESTIGEN de ondertekenaars de volgende bedoelingen en zullen ze de uitvoering ervan in hun respectieve hoedanigheid actief ondersteunen: (waaronder de FAIR-beginselen).

versterken. Een mogelijke keerzijde van massale gegevensgeneratie en -uitwisseling is het privacyrisico. Een mogelijkheid, zeker bij het gebruik van modulaire, containergestuurde analysemethoden, is om de analyse naar de gegevens te brengen. Los daarvan kunnen de analysemodules worden beoordeeld door externe deskundigen en vervolgens worden uitgevoerd in een beveiligde gegevenskluis. De output moet worden beperkt tot mogelijk geanonimiseerde resultaten voor downstream-analyse.

Beloften

Het aantal toepassingen van AI in de gezondheidszorg zal snel toenemen. De hoeveelheid gegevens over de gezondheidszorg maakt een menselijke analyse steeds problematischer, terwijl de mogelijkheden van intelligente computeranalyse bijna met de dag beter worden. Het is te verwachten dat de omics-gegevens, als de uitgebreide en gedetailleerde weergave van essentiële mechanismen in het menselijk lichaam, in de toekomstige AI-gezondheidszorgtoepassingen op het voorplan zullen treden en in het middelpunt zullen staan.

Omdat nieuwe, fijnmazige gegevensbronnen worden toegevoegd aan de klinische en omics-gegevens, bijvoorbeeld microbiële gegevens of informatie verkregen uit wearables, zal de waarde van AI alleen maar toenemen. Het samenvoegen van uitgebreide databases met persoonlijke gegevens, klinische gegevens en een steeds breder scala aan omics-data kan uiteindelijk leiden tot een 'digitale tweeling' van de patiënt.

AI-bots zouden deze nog omvangrijkere gegevens kunnen gebruiken om steeds betere uitspraken te doen over diagnose en behandeling. Een database van digitale tweelingen zou een krachtig platform kunnen zijn voor deskundige systeemdiagnose, behandelingsselectie, voorspelling van resultaten en nieuwe klinische inzichten.

11. Ethische en wettelijke beperkingen

De mogelijkheid om omics-gegevens in de kliniek te gebruiken, is sterk afhankelijk van de gezondheidsinformatietechnologieën. De verspreiding van omics-data roept verschillende ethische en juridische vragen op in verband met het genereren, aggregeren, analyseren, opslaan, gebruiken en hergebruiken van gegevens voor klinische en onderzoeksdoelstellingen. Om de omics-technologieën in de klinische en onderzoeksomgeving te kunnen implementeren, moeten dergelijke ethische en juridische overwegingen op adequate wijze worden aangepakt. Er moet rekening worden gehouden met een aantal belangrijke overwegingen.

Privacy van personen en familieleden

Omics-data kunnen gezondheids- en niet-gezondheidsgerelateerde informatie over individuen en hun familieleden onthullen. De voorspellende aard van sommige omics-data geeft aanleiding tot bezorgdheid over mogelijk misbruik in de arbeids- en verzekeringswereld¹⁶⁷. Uit eerdere studies is gebleken dat het publiek zich zorgen maakt over dergelijk misbruik van gegevens. Bovendien wordt, gezien de unieke identificerende aard van omics-data, het gebruik van de traditionele methode om bepaalde identifiers uit gegevens te verwijderen - de-identificatie genoemd - om de privacy van de individuen te beschermen, als onvoldoende beschouwd. De voorbeelden van de heridentificeerbaarheid van genetische gegevens hebben al aanleiding gegeven tot bezorgdheid over een adequate bescherming van de privacy¹⁶⁸.

De ontwikkeling van 'Electronic Health Records' (EHR) en de opname van diverse omics-gegevens in deze databanken verhoogt ook de bezorgdheid over onbedoelde toegang door derden.

¹⁶⁷ Wauters & Van Hoyweghen, 2018.

¹⁶⁸ Gymrek et al., 2013.

¹⁶⁸ Henneman et al., 2016.

Bezorgdheid over privacy en mogelijk misbruik van gegevens kan leiden tot terughoudendheid om te worden getest. Dit is vooral te wijten aan het feit dat het EHR's vaak omvangrijk zijn (met verslagen van klinische ontmoetingen met in wezen alle zorgverleners van een individu) alsook longitudinaal (met gezondheidsdossiers over een langere periode) en onmiddellijk onder meerdere partijen worden verspreid¹⁶⁹.

Dit onderwerp is van het grootste belang met het oog op de recente wijzigingen in de regelgeving inzake de bescherming van persoonsgegevens, met name de Europese Algemene Verordening Gegevensbescherming (Verordening (EU) 2016/679). De verordening erkent genetische gegevens als gevoelige gegevens. Daarom moet de verwerking van identificeerbare persoonsgegevens voor klinische en onderzoeksdoeleinden gebaseerd zijn op een van de vastgestelde wettelijke gronden (artikel 6, artikel 9, artikel 89). Dit heeft ook gevolgen voor de relevante rechten van de betrokkenen, zoals het minimaliseren van de hoeveelheid gegevens en het recht op toegang¹⁷⁰. In dit verband moet ook rekening worden gehouden met relevante richtsnoeren zoals de naleving van de FAIR-principes (Findable, Accessible, Interoperable en Reusable) bij de uitwisseling van en de toegang tot gegevens.¹⁷¹

Mededeling van de resultaten en het recht (niet) te weten

Tot nu toe waren de ethische en juridische discussies over omics en het beheer van genetische gegevens vooral gericht op zorgen met betrekking tot de interpretatie en het terugsturen van primaire en secundaire bevindingen van deze tests naar individuen. Wat te doen wanneer de tests aanvullende gezondheidsinformatie aan het licht brengen, die geen verband houdt met de oorspronkelijke reden voor de sequentiebepaling?

Dergelijke zorgen houden vooral verband met de classificaties van de varianten en de beste praktijken in de mededeling van de resultaten aan de patiënten. Patiënten moeten in staat zijn geïnformeerde keuzes te maken over de communicatie van de resultaten¹⁷². Daarbij moet ervoor worden gezorgd dat professionals voldoende zijn opgeleid om op een duidelijke en toegankelijke manier met de patiënten te communiceren over verschillende aspecten van het gebruik van Big Data in de geneeskunde, waaronder het delen van gegevens. Ethische en juridische overwegingen met betrekking tot het recht van patiënten om 'niet te weten' zijn uitgebreid besproken in de literatuur. 'Het recht om niet te weten' is voornamelijk erkend in de verwerking van genetische informatie, met respect voor de wens van de individuen om niet geïnformeerd te worden over specifieke genetische informatie of om niet getest te worden op een specifieke genetische aandoening. Met name kan dergelijke informatie niet alleen gevolgen hebben voor individuen, maar ook voor hun familieleden.

Naast het terugsturen en interpreteren van de resultaten, roepen kwesties met betrekking tot het opslaan en terugsturen van ruwe gegevens ethische en juridische vragen op, zowel in de onderzoekswereld als in de klinische wereld. Verwante vragen zijn onder andere: wat is het interne beleid van testaanbieders bij het terugsturen van de ruwe (niet-geïnterpreteerde) gegevens naar patiënten? Wat kunnen patiënten doen met ruwe gegevens als ze er eenmaal toegang toe hebben? Zouden personen hun gegevens rechtstreeks delen voor verder onderzoek?¹⁷³ Momenteel is er weinig informatie beschikbaar over de voorkeuren van individuen in dit verband. Aanbevolen wordt dat de testaanbieders een beleid voeren met betrekking tot de teruggave van ruwe gegevens in overeenstemming met de belangen van het individu.

¹⁷⁰ Shabani & Borry, 2017; Marelli & Testa, 2018.

¹⁷¹ <https://www.dtls.nl/fair-data/personal-health-train/>

¹⁷² Vears et al., 2018.

¹⁷³ Badalato & Borry, 2017; Shabani et al., 2018.

¹⁷³ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5412058/>

¹⁷³ <https://www.karger.com/Article/FullText/488086>

Omics-data en Direct-to-Consumer diensten

Direct-to-Consumer (DTC) genetische testdiensten stellen individuen in staat om rechtstreeks genetische tests te bestellen en resultaten te ontvangen over hun risico's op verschillende genetische aandoeningen. Het is aannemelijk dat individuen gebaat kunnen zijn met toegang tot hun persoonlijke genomics-gegevens. Zij kunnen hun persoonlijke gezondheidsrisico's leren kennen, wat hen ertoe zou kunnen overhalen om hun levensstijl te veranderen teneinde dergelijke risico's te beperken. Verschillende studies hebben aangetoond dat het gebruik van DTC-diensten uiteenlopende gevolgen heeft voor de feitelijke veranderingen in levensstijl.¹⁷⁴¹⁷⁵

Bovendien doet het rechtstreeks aanbieden van dergelijke informatie aan de consument ook vragen rijzen over het klinisch nut en de geldigheid van de tests. Daarnaast kan er ook psychologische schade ontstaan door gevoelige testresultaten, waarbij het toezicht van de arts ontbreekt.

Hergebruik van gegevens voor klinische en onderzoeksdoeleinden

Om het potentieel van omics-data volledig te benutten, is het delen van gegevens met een breed scala aan klinici en onderzoekers van het grootste belang. Dit zal de statistische kracht van de databanken verbeteren. Het zal ook helpen bij de interpretatie van de gegevens. Bovendien is het van cruciaal belang om de vooringenomenheid van gegevens te overwinnen door gegevens van verschillende rassen of etnische groepen te verzamelen en te delen, kwestie van een oververtegenwoordiging van bepaalde fenotypen in bepaalde rassen of etnische groepen te voorkomen.

Om het delen van gegevens te vergemakkelijken, zijn openbare databanken opgezet om de resultaten van studies naar de interacties tussen genotype en fenotype te hosten en te verspreiden. De database met Genotypen en Fenotypen (dbGaP) en het 'European Genome-phenome Archive' (EGA), bijvoorbeeld, bevatten voornamelijk klinische informatie, genomische karakteriseringsgegevens en genomische gegevens. Afhankelijk van het soort gegevens en het privacybeleid wordt de toegang van de gebruikers tot deze databanken beheerd via open-toegangsmechanismen of via gecontroleerde toegang langs centrale of lokale comités. Een andere mogelijkheid, zoals sommigen hebben voorgesteld, is dat patiënten en individuen een actieve rol spelen bij het delen van hun gegevens en inspraak hebben in de manier waarop hun gegevens worden gedeeld en voor welke doeleinden.

In principe is het toezicht op het downstreamgebruik van databases een van de uitdagingen met betrekking tot het delen van gegevens. De principes van de bescherming van menselijke subjecten en persoonsgegevens in biomedisch onderzoek onderstrepen de noodzaak van een dergelijk toezicht. Er moet met name rekening worden gehouden met de kwesties in verband met adequate toestemming voor het verzamelen en opslaan van biologische monsters en gegevens in biobanken en databanken voor downstreamgebruik. Ook moet de vraag worden beantwoord of een opt-outmodel geschikt is in het kader van de verzameling van data en monsters voor toekomstige onderzoeksdoeleinden. Hoe dan ook, het toestemmingsbeleid mag het onderzoek niet belemmeren door zware eisen te stellen aan het proces van gegevensverzameling en -uitwisseling.

¹⁷⁴ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5412058/>

¹⁷⁵ <https://www.karger.com/Article/FullText/488086>

IV. CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN: medische, ethische en maatschappelijke uitdagingen

De 'omics'-(r)evolutie vraagt dringend om een ethisch en maatschappelijk debat. De impact van omics-tests wordt vaak onderschat en de toepassing ervan raakt op de een of andere manier de grenzen van de bestaande maatschappelijke en ethische normen. In dit verband is het belangrijk om niet voorbij te gaan aan de lessen die getrokken werden uit het veld van de genomica, de pionier onder de klinische omics-technologieën. Ethische en andere kwesties die voortkomen uit de klinische genomica zullen dus opnieuw de kop opsteken, wanneer ook andere omics-technologieën in de kliniek worden toegepast. Zo hebben metabolomics en lipidomics bijvoorbeeld het potentieel om de levensstijl en voedingsgewoonten van mensen te onthullen, enz. Daarom moeten we leren van genomics wanneer andere omics-technologieën gemeengoed worden in de kliniek. Het genoom bevat informatie die sommige mensen misschien liever niet weten. Het genoom van het individu wordt echter gedeeld door zijn of haar familieleden. We delen allemaal de helft van ons genoom met onze vader en moeder, broers en zussen en onze kinderen. Een kwart delen we met grootouders, neven en kleinkinderen, enzovoort. De resultaten van een genomanalyse hebben dus implicaties voor veel mensen die verwant zijn aan een individu dat een genomische test ondergaat.

Lessen uit de genomica in de gezondheidszorg

Naast de ethiek brengt de introductie van de 'omics'-geneeskunde ook praktische uitdagingen met zich mee. Deze hebben invloed op de organisatie van de geneeskunde in het algemeen. Ten eerste moet de vraag of een patiënt of individu al dan niet een omics-analyse nodig heeft en er baat bij heeft, in een vroeg stadium van de diagnostische evaluatie worden gesteld. Als gevolg hiervan zullen huisartsen, medisch specialisten en genetische/omics-adviseurs een belangrijke rol spelen bij de doorverwijzing van een patiënt voor een omics-consult. Ze zouden zich als poortwachters moeten gedragen en ze zouden de patiënten en hun families moeten begeleiden naar genetische diensten wanneer deze nodig zijn. Omics-laboratoria en -specialisten (bijv. klinische genetici en klinische laboratoriumspecialisten) moeten samen met andere medische specialisten en zorgprofessionals garanderen dat de meest geschikte test wordt aangeboden.

Een andere belangrijke kwestie is: hoe moeten deze diensten worden terugbetaald? Momenteel dekt het budget voor genetische tests in België niet de volledige genomsequentiebepaling (WGS). Er moet een nieuw model voor omics-diagnostiek en -adviesverlening worden ontwikkeld. Bio-informatica met inbegrip van AI en 'Big Data'-tools gelden als vereiste voor een betere en snellere interpretatie van de grote datasets die gepaard gaan met een (totale) omics-analyse. Een nauwe samenwerking tussen klinici, klinische laboratoriumspecialisten, bio-informatici, klinische genetici en genetica-/omics-adviseurs is van cruciaal belang voor de introductie van omics-geneeskunde.

In afwachting daarvan blijft de interpretatie van alle genetische varianten die in een individu zijn geïdentificeerd een uitdaging. Men moet onderscheid maken tussen 'neutrale' varianten en pathogene varianten. Dit is verre van triviaal, aangezien elke analyse een groot aantal genetische varianten aan het licht brengt. De meeste van deze varianten komen niet voor in internationale databases en zijn tot nu toe nooit beschreven in de literatuur. Wie moet dan vertellen wat de functionele effecten van deze varianten zijn?

Dit rechtvaardigt de vraag of patiënten met veel voorkomende aandoeningen zoals diabetes of dementie al dan niet baat hebben bij een genomics-analyse. Het antwoord is: waarschijnlijk niet in het huidige kennisstadium. In de meeste gevallen zijn deze aandoeningen het gevolg van een combinatie van genetische aanleg, omgeving (bijvoorbeeld gedefinieerd door het exposoom), levensstijl en pech. De aan- of afwezigheid van genetische varianten kan alleen worden uitgedrukt als een relatief risico. Mensen zullen informatie over relatieve risico's moeten begrijpen en ermee om moeten gaan. Deskundigen en beleidsmakers zullen moeten beslissen of en op welk moment

voorspellende tests ten goede komen aan preventie en diagnose. De overheid organiseert al jaren een neonatale screening door middel van een Guthrie-test voor het vroegtijdig opsporen van zeldzame, erfelijke maar behandelbare ziekten. Deze screening wordt expliciet aangeboden buiten de individuele klinische zorg om. Het individu hoeft geen initiatief te nemen. Dit wordt gedaan om mensen niet onnodig ongerust te maken. Mensen lopen slechts een beperkt risico om slecht nieuws te ontvangen.

Dragertests voor ernstige recessieve aandoeningen zijn een optie geworden voor koppels die overwegen een gezin te stichten (d.w.z. preconceptioneel). Als beide partners een recessieve mutatie in hetzelfde gen dragen, resulteert één op de vier zwangerschappen in het krijgen van een baby met de bijbehorende ziekte. In 2017 heeft de HGR geadviseerd om preconceptionele dragerschapstesten beschikbaar te stellen, om koppels reproductieve keuzes te bieden¹⁷⁶. Het is eigenlijk een soort van screening die hopelijk nooit verplicht zal worden.

Gezien deze zeer omzichtige procedure is het opmerkelijk dat juist op dit delicate gebied commerciële bedrijven genetische tests aanbieden, meestal op het internet. Deze commerciële tests zijn gericht op mensen zonder klinische symptomen. Op basis van de genetische profilering van het DNA van een individu geven zij gepersonaliseerde aanbevelingen op het vlak van levensstijl, wat in feite relatieve risicovoorspellingen zijn. Deze bedrijven wagen zich steeds meer aan diagnostiek en dragerschapstests voor genetische ziekten en de behoefte aan regelgeving doet zich almaar sterker gevoelen om een duidelijk gezondheidsvoordeel voor het individu te garanderen.

In het verleden werden prenatale genetische tests alleen uitgevoerd bij risicovolle zwangerschappen. In de afgelopen jaren is de niet-invasieve prenatale NIPT-test ontwikkeld, die wordt uitgevoerd op een bloedmonster van de moeder. Het werd daarna zeer snel aangenomen. In België wordt de test voor alle zwangere vrouwen vergoed. Hierdoor is het NIPT al snel een standaardpraktijk geworden: in 2018 werden ongeveer 100.000 van de naar schatting 110.000 zwangerschappen getest¹⁷⁷. Gezien de voortdurende technologische ontwikkelingen wordt verwacht dat het NIPT uiteindelijk in staat zal zijn om het volledige foetale genoom te 'lezen'.

Het is mogelijk dat het genomisch screenen van de hele bevolking gemeengoed wordt. Een screening bij de geboorte of, als volgende stap, een prenatale screening kan werkelijkheid worden. De volledige genetische samenstelling van een pasgeborene zou dan beschikbaar zijn, ongeacht de klinische presentatie. Mogelijkheden als deze vragen om een diepgaand en inclusief ethisch en maatschappelijk debat voordat de introductie kan worden overwogen.

Intussen moet de hele genoomanalyse in het juiste perspectief worden geplaatst. Op dit moment is het reden voor onnodige angst. Voor veel mensen hebben de woorden *genetica* en *genomica* een negatieve bijklank. Mensen hebben de neiging om het te koppelen aan (het opsporen van) ernstige, aangeboren ziekten, het te associëren met kanker of het te beschouwen als een opstapje naar eugenetische praktijken. Veel angst in dit verband wordt veroorzaakt door misvattingen. Mensen moeten bewust worden gemaakt van wat een genoomanalyse wel of niet kan vertellen. Mensen moeten geïnformeerd worden over wat genomics is.

Kwesties als de privacy, veiligheid en bescherming van genomische gegevens vormen een bijzondere uitdaging, vooral als deze gegevens deel gaan uitmaken van het elektronisch medisch dossier van een patiënt. Naast klinische informatie richt de gezondheidszorg zich steeds meer op

¹⁷⁶ HGR, 2017.

¹⁷⁷ Data van het RIZIV/INAMI (*Rijksinstituut voor ziekte- en invaliditeitsverzekering / Institut national d'assurance maladie-invalidité*).

de levensstijl en de omgeving. Het lezen en interpreteren van ons genoom zal binnenkort dan ook een integraal onderdeel vormen van zorg, behandeling en preventie.¹⁷⁸

1. Organiseren van 'omics'-zorgverlening in klinische expertisecentra

Ook al lijkt genomica voorop te lopen en wordt het nu en in toenemende mate toegepast in de geneeskunde en de gezondheidszorg, het zal binnenkort gevolgd worden door andere 'omics' die zowel voor de patiëntenzorg, voor de diagnostiek als voor de preventie zullen worden toegepast. Twee overwegingen zijn belangrijk. In de eerste plaats moet zorgvuldig worden nagedacht over de organisatie van de 'omics-geneeskunde' en de integratie ervan in de openbare gezondheidszorg. In dit verband wordt de term 'omics healthcare' bedacht. Ten tweede is 'genomics' niet uniek en uiteindelijk zullen gegevens uit proteomics, transcriptomics, metabolomics en epigenomics moeten worden geïntegreerd. Parallel hiermee zullen de andere omics zoals glycomics, lipidomics, microbiomics en exposomics binnenkort volgen.

Deze constatering vraagt om een zorgvuldige organisatie van de 'omics healthcare', waarbij de beschikbare omics-expertise wordt samengebracht evenals de integratie van onderzoek en gezondheidszorg. Instituten voor 'omics healthcare' kunnen virtuele klinische expertisecentra of platformen zijn, die gespecialiseerde klinische centra en instituten met elkaar verbinden. Dit moet het mogelijk maken om de vooruitgang in het veld bij te houden en de nieuwste technologie te verwerven.

Aanbeveling

De inzet van omics, de interpretatie van de gegevens van de verschillende platformen en de opslag van de informatie, wat 'omics healthcare' (omics-gezondheidszorg) genoemd wordt, kan het beste worden georganiseerd in 'omics clinical expert centres', bij voorkeur geassocieerd met grote ziekenhuizen en onderzoeksinstituten. Er moet een netwerk worden opgebouwd om de verschillende 'omics healthcare centres' (omics-gezondheidszorgcentra) sterk met elkaar te verbinden. Gezien de huidige status moeten 'omics healthcare centra' worden opgericht en ondersteund door de overheid met behulp van klinische en onderzoeksfondsen, met als doel de 'omics healthcare' te centraliseren en het wetenschappelijk onderzoek te bevorderen. België zou het voortouw kunnen nemen in de omics-gezondheidszorg, wanneer het investeert in dergelijke expertisecentra.

2. Ondersteunen van nationaal gecentraliseerde databanken

Er zullen enorme hoeveelheden gegevens worden gegenereerd door de verschillende omics, zowel voor onderzoek als voor klinische toepassingen. Het is belangrijk om te beseffen dat uiteindelijk de gegevens van omics zullen moeten worden gecombineerd voor een nauwkeurige diagnose, voor preventieve geneeskunde, screening en toezicht, en voor precisiebehandeling en follow-up. Op internationaal niveau wordt de voorkeur gegeven aan de lokale opslag van omics-datasets ('lokaal' betekent hier dan wel onder toezicht van het omics-centrum en de datamanager, zelfs als de gegevens in de cloud zouden worden opgeslagen, wat meestal het geval zal zijn om economische redenen). De lokaal opgeslagen gegevens kunnen echter door andere klinische en basisonderzoekers worden gebruikt, waarbij de gebruiker de analyse op de dataset mag uitvoeren terwijl de gegevens niet hoeven te worden overgedragen. Er bestaan grote infrastructuren op Europees niveau en deze moeten worden ondersteund. Ze ondersteunen ook de nationaal gecentraliseerde database.

¹⁷⁸ Een deel van de tekst werd aangepast uit het hoofdstuk 'Humane genetica en genoomanalyse' in 'Hoe word ik Einstein van Da Vinci', Ed.: Lannoo Campus en Metaforum KU Leuven, 2015.

Aanbeveling

De nationaal gecentraliseerde databanken, waarbij de omics-centra instaan voor het databeheer en de opslag, zijn het geprefereerde model. De gegevens kunnen worden gedeeld voor analyse, maar niet worden overgedragen aan derden.

3. Overschakelen op een andere visie op gegevensbescherming

De organisatie van de diensten en het verzamelen en opslaan van gegevens vormen een uitdaging voor het eigendom, de toegang en de controle. In overeenstemming met de Algemene Verordening Gegevensbescherming (AVG) en andere privacyregels is de patiënt of burger de eigenaar van de gegevens. Door de organisatie van 'omics-centra' zullen de patiënt, de burger en de maatschappij echter maximaal profiteren van de gegevens, als artsen en onderzoekers de mogelijkheid krijgen om datasets op te volgen en informatie terug te geven aan de patiënt en de burger als er nieuwe inzichten beschikbaar komen. Er moet een debat worden gevoerd over het maatschappelijke gebruik van de omics-databases, aangezien kennis over de oorsprong van ziekten en gezondheid niet alleen gunstig is voor het individu, maar ook voor de samenleving en de volgende generaties. Hoewel het gebruik van geanonimiseerde omics-gegevens voor medisch onderzoek en onderzoek ter verbetering van de volksgezondheid moet worden vergemakkelijkt, moet het gebruik van dergelijke gegevens, zelfs door de persoon in kwestie, voor verzekerings- of economische doeleinden worden verboden of op zijn minst sterk worden beperkt.

Aanbeveling

De autonomie van de patiënt en de burger moet worden gewaarborgd, terwijl nieuwe modellen en voorschriften voor de continue actualisering en evaluatie van gegevens ten behoeve van de gezondheid van de patiënt en de burger moeten worden ontwikkeld. In de praktijk geldt de patiënt en de burger als verwerkingsverantwoordelijke, maar er kunnen protocollen worden ondertekend om de patiënt en de burger te informeren wanneer nieuwe kennis kan worden gebruikt voor zijn of haar gezondheid. Het pad zal hoogstwaarschijnlijk de patiënt en de burger via een hoofdverzorger verbinden met de deskundigen in de omics-centra. De ethische procedures, waaronder de ontwikkeling van een model voor geïnformeerde toestemming met opt-in of opt-out keuzes, moeten worden uitgewerkt.

4. Creëren van nieuwe beroepen en verstrekken van opleidingen

De introductie van genomics en andere omics zal het gezicht van de geneeskunde en de gezondheidszorg veranderen. Het zal ook invloed hebben op de manier waarop patiënten en burgers gezondheid en preventie zullen opvatten en zorgverleners klinische problemen en preventie zullen aanpakken. Er zullen nieuwe beroepen in de gezondheidszorg ontstaan om de enorme hoeveelheid informatie te vertalen naar nuttig advies voor patiënten en burgers. Deze nieuwe zorgprofessionals moeten worden opgeleid in omics en de klinische toepassing ervan en moeten een holistische aanpak hanteren om versnippering van de gespecialiseerde zorg te voorkomen.

Aanbeveling

Nieuwe beroepen in de gezondheidszorg moeten worden erkend en er moeten opleidingsprogramma's worden geïnstalleerd om deze professionals op te leiden. Voor een snelle introductie van genomics in de geneeskunde en de gezondheidszorg moeten genetische adviseurs worden opgeleid en hun rol moet worden erkend als een nieuw gezondheidsberoep. Voor de interpretatie en integratie van de complexe informatiemassa zullen er klinische laboratoriumspecialisten opgeleid worden en zij moeten op eenzelfde manier erkend worden als een nieuwe groep van professionals in de gezondheidszorg. Op lange termijn zullen er wellicht andere nieuwe groepen van professionals moeten worden opgeleid, die dicht bij de patiënt en de burger staan en die de primaire zorgverleners helpen bij het verstrekken en verzamelen van informatie.

5. Overwegen van screening

De overheid en de maatschappij moeten het idee onder ogen zien dat omics-technologieën gebruikt zullen worden om de bevolking in verschillende levensfasen te screenen. De verwachting is dat pasgeborenen bij de geboorte hun hele genoom zullen laten sequencen. Dit betekent niet dat alle gegevens onmiddellijk openbaar moeten worden gemaakt. Verschillende sets van genomische informatie hebben een verschillende waarde en impact op verschillende momenten in het leven. Er moet dan ook een debat worden georganiseerd en er moeten tevens besluiten worden genomen over de begrotingskant van dit alles.

Aanbeveling

De maatschappelijke discussie over het gebruik van genomics moet worden ondersteund door voorlichtingscampagnes en onderwijs. Gezien de mogelijke impact van genetische en genomische gegevens moet prioriteit worden gegeven aan het opleiden van de burger en de zorgverleners over genomics. Andere omics, zoals proteomics, metabolomics en epigenomics kunnen echter eveneens een stadium bereiken waarin ze nuttig zijn voor het screenen van hele of geselecteerde populaties, bijvoorbeeld voor het toezicht op kanker, voor chronische ziekten en voor milieublootstelling.

6. Recht en verzekering

De diagnostische en voorspellende waarde van genomische en andere omics-gegevens creëert specifieke juridische uitdagingen. Zorgen zijn (mis)gebruik van (gen)omics-gegevens door werkgevers, verzekeringen of de overheid. Ook de juridische status van de monsters en de gegevens en de vereisten voor de opslag van monsters en gegevens, moeten worden verduidelijkt en eventueel in een wet worden gegoten. Ten slotte zijn Direct-to-Consumer testen, die meestal via het internet worden aangeboden, onder de huidige Belgische wetgeving en Europese regelgeving geenszins gecontroleerd of controleerbaar. Het gebruik en misbruik van dergelijke gegevens en het effect van de resultaten op patiënten en burgers is een belangrijk punt van zorg. Daarnaast bestaat het risico dat een algemene interesse voor Direct-to-Consumer testen tot angst leidt, waarna individuen en families genetisch advies zullen inwinnen. Dit laatste zal een belasting vormen voor de gezondheidszorg.

Aanbeveling

Het gebruik en de status van genomics- en andere omics-gegevens moet strikt wettelijk worden geregeld. Vooral patiënten en burgers moeten worden beschermd tegen gebruik en misbruik van genomics- en omics-gegevens. De juridische status van de gegevens en de vereisten voor de opslag van monsters en gegevens moeten worden verduidelijkt.

7. Bevorderen van de bepaling van het exposoom en de preventie

Preventie maakt deel uit van de beloftes van omics-technologieën en -toepassingen. Dit aspect vereist het nodige onderzoek en investeringen. Feit is dat omics-technologieën een rol kunnen spelen bij elke vorm van preventie: van primaire tot tertiaire preventie. *In concreto* kunnen omics-technologieën helpen om de oorzaken van ziekten beter te begrijpen door de bepaling van het exposoom dat kan leiden tot acties om gevaarlijke stoffen te verbieden en de burgers te helpen gezonde keuzes te maken. Omics kunnen een rol spelen op het vlak van screening en vroegtijdige diagnostiek. Tot slot kunnen omics helpen bij het personaliseren van de behandeling met minder bijwerkingen en effectievere behandelingsprotocollen. Er is echter tevens behoefte aan een correcte voorlichting van de burgers (quaternaire preventie) om shopping en overconsumptie binnen de gezondheidszorg te voorkomen. Deze doelstellingen sluiten aan bij andere initiatieven van de HGR op het gebied van 'genomisch testen bij een gezonde bevolking'.

Aanbeveling

De overheid moet financiering verstrekken voor onderzoek naar preventie en voor de klinische implementatie van 'omics voor gezonde mensen'.

V. REFERENTIES

Inleiding en problematiek

Vineis P, van Veldhoven K, Chadeau-Hyam M, Athersuch TJ. Advancing the Application of Omics-Based Biomarkers in Environmental Epidemiology. *Environ Mol Mutagen* 2013;54:461-7.

Genomics

EC – European Commission. European '1+ Million Genomes' Initiative. Available from: URL:<<https://ec.europa.eu/digital-single-market/en/european-1-million-genomes-initiative>>

French JD, Edwards SL. The Role of Noncoding Variants in Heritable Disease. *Trends Genet* 2020;36:880-91.

Green ED, Gunter C, Biesecker LG, Di Francesco V, Easter CL, Feingold EA et al. Strategic vision for improving human health at The Forefront of Genomics. *Nature* 2020;586:683-92.

Manolio TA, Rowley R, Williams MS, Roden D, Ginsburg GS, Bult C et al. Opportunities, resources, and techniques for implementing genomics in clinical care. *Lancet* 2019;394:511-20.

Shendure J, Balasubramanian S, Church GM, Gilbert W, Rogers J, Schloss JA et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature* 2017;550:345-53.

Strachan T, Read A. *Human Molecular Genetics*. CRC Press 2018;5:1-770.

Turro E, Astle WJ, Megy K, Gräf S, Greene D, Shamardina O et al. Whole-genome sequencing of patients with rare diseases in a national health system. *Nature* 2020;583:96-102.

Epigenomics

Ardui S, Ameer A, Vermeesch JR, Hestand MS. Single molecule real-time (SMRT) sequencing comes of age: applications and utilities for medical diagnostics. *Nucleic Acids Research* 2018;46:2159-68.

Bakusic J, Schaufeli W, Claes S, Godderis L. Stress, burnout and depression: A systematic review on DNA methylation mechanisms. *J Psychosom Res* 2017;92:34-44.

Berdasco M, Esteller M. Clinical epigenetics: seizing opportunities for translation. *Nat Rev Genet* 2019;20:109-27.

Danhof-Pont MB, van Veen T, Zitman FG. Biomarkers in Burnout: A Systematic Review. *Journal of Psychosomatic Research* 2011;70:505–24.

Declerck K, Vanden Berghe W. Back to the future: Epigenetic clock plasticity towards healthy aging. *Mech Ageing Dev* 2018;174:18-29.

Declerck K, Vanden Berghe W. Characterization of Blood Surrogate Immune-Methylation Biomarkers for Immune Cell Infiltration in Chronic Inflammaging Disorders. *Front Genet* 2019;10:1229.

Dedeurwaerder S, Defrance M, Calonne E, Denis H, Sotiriou C, Fuks F. Evaluation of the Infinium Methylation 450K technology. *Epigenomics* 2011;3:771-84.

Dedeurwaerder S, Desmedt C, Calonne E, Singhal SK, Haibekains B, Defrance M et al. DNA methylation profiling reveals a predominant immune component in breast cancers. *EMBO Mol Med* 2011;3:726-41.

Dedeurwaerder S, Defrance M, Bizet M, Calonne E, Bontempo G, Fuks F. A comprehensive overview of Infinium HumanMethylation450 data processing. *Brief Bioinform* 2014;15:929-41.

Fiers MWEJ, Minnoye L, Aibar S, Bravo González-Blas C, Kalender Atak Z, Aerts S. Mapping gene regulatory networks from single-cell omics data. *Brief Funct Genomics* 2018;17:246-54.

Gruzieva O, Xu CJ, Yousefi P, Relton C, Kebede Merid S, Breton CV et al. Prenatal Particulate Air Pollution and DNA Methylation in Newborns: An Epigenome-Wide Meta-Analysis. *Environ Health Perspect* 2019;127:57012.

Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med* 2003;349:2042-54.

Jeschke J, Bizet M, Desmedt C, Calonne E, Dedeurwaerder S, Garaud S et al. DNA methylation-based immune response signature improves patient diagnosis in multiple cancers. *J Clin Invest* 2017;127:3090-102.

Joubert BR, Felix JF, Yoesefi P, Bakulski KM, Just AC, Breton C et al. DNA Methylation in Newborns and Maternal Smoking in Pregnancy: Genome-wide Consortium Meta-analysis. *Am J Hum Genet* 2016;98:680–96.

Langie SAS, Moisse M, Declerck K, Koppen G, Godderis L, Vanden Berghe W et al. Salivary DNA Methylation Profiling: Aspects to Consider for Biomarker Identification. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2017;121:93-101.

Langie SAS, Moisse M, Szarc vel Szic K, Van Der Plas E, Koppen G, De Prins S et al. GLI2 promoter hypermethylation in saliva of children with a respiratory allergy. *Clin Epigenetics* 2018;10:50.

Milenkovic D, Declerck K, Guttman Y, Kerem Z, Claude S, Weseler AR et al. (-)-Epicatechin metabolites promote vascular health through epigenetic reprogramming of endothelial-immune cell signaling and reversing systemic low-grade inflammation. *Biochem Pharmacol* 2020;173:113699.

Pauwels S, Ghosh M, Duca RC, Bekaert B, Freson K, Huybrechts I et al. Dietary and supplemental maternal methyl-group donor intake and cord blood DNA methylation. *Epigenetics* 2017;12:1-10.

Pauwels S, Ghosh M, Duca RC, Bekaert B, Freson K, Huybrechts I et al. Maternal intake of methyl-group donors affects DNA methylation of metabolic genes in infants. *Clin Epigenetics* 2017;9:16.

Pauwels S, Truijen I, Ghosh M, Duca RC, Langie SAS, Bekaert B et al. The effect of paternal methyl-group donor intake on offspring DNA methylation and birth weight. *J Dev Orig Health Dis* 2017;8:311-21.

Rots MG, Jeltsch A. Editing the Epigenome: Overview, Open Questions, and Directions of Future Development. *Methods Mol Biol* 2018;1767:3-18.

Saenen ND, Vrijens K, Janssen BG, Roels HA, Neven KY, Vanden Berghe W et al. Lower Placental Leptin Promoter Methylation in Association with Fine Particulate Matter Air Pollution during

Pregnancy and Placental Nitrosative Stress at Birth in the ENVIRONAGE Cohort. *Environ Health Perspect* 2017;125:262–8.

Szarc vel Szic K, Declerck K, Vidaković M, Vanden Berghe W. From inflammaging to healthy aging by dietary lifestyle choices: is epigenetics the key to personalized nutrition? *Clin Epigenetics* 2015;7:33.

Thienpont B, Steinbacher J, Zhao H, D'Anna F, Kuchnio A, Ploumaki A et al. Tumour hypoxia causes DNA hypermethylation by reducing TET activity. *Nature* 2016;537:63-8.

Vanden Berghe W. Epigenetic impact of dietary polyphenols in cancer chemoprevention: lifelong remodeling of our epigenomes. *Pharmacol Res* 2012;65:565-76.

Wrangle J, Wang W, Koch A, Easwaran H, Mohammad HP, Vendetti F et al. Alterations of immune response of Non-Small Cell Lung Cancer with Azacytidine. *Oncotarget* 2013;4:2067-79.

Zannas AS, West AE. Epigenetics and the Regulation of Stress Vulnerability and Resilience. *Neuroscience* 2014;264:157–70.

Transcriptomics

Branch L. The Cancer Genome Atlas Program. 2017. Available from: URL:<<https://cancergenome.nih.gov/abouttca>>

Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J, Slaets L, Viale G, Delaloge S et al. 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med* 2016;375:717-29

Human cell atlas. 2020. Available from: URL:<<https://www.humancellatlas.org>>

NIH – National human Genome Research Institute. Genotype-tissue expression project. 2010. Available from: URL:<<https://www.genome.gov/27543767/genotypetissue-expression-project-gtex>>

Nilüfer Güler E. Gene Expression Profiling in Breast Cancer and Its Effect on Therapy Selection in Early-Stage Breast Cancer. *Eur J Breast Health* 2017;13:168-74. Available from: URL:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5648272/table/t1-jbh-13-4-168/>>

Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Braker J, Cronin M et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *The New England journal of medicine* 2004;351:2817–26.

Parker JS, Mullins M, Cheang MCU, Leung S, Voduc D, Vickery T et al. Supervised Risk Predictor of Breast Cancer Based on Intrinsic Subtypes. *J Clin Oncol* 2009;27:1160–7.

Vrijens K, Winckelmans E, Tsamou M, Baeyens W, De Boever P, Jennen D et al. Sex-Specific Associations Between Particulate Matter Exposure and Gene Expression in Independent Discovery and Validation Cohorts of Middle-Aged Men and Women. *Environ Health Perspect* 2017;125:660-9.

Proteomics

Anderson NL. The clinical plasma proteome: a survey of clinical assays for proteins in plasma and serum. *Clin Chem* 2010;56:177-85.

Anderson NL, Ptolemy AS, Rifai N. The riddle of protein diagnostics: future bleak or bright? *Clin Chem* 2013;59:194-7.

Bache N, Geyer FE, Bekker-Jensen DB, Hoerning O, Falkenby L, Treit PV et al. A Novel LC System Embeds Analytes in Pre-formed Gradients for Rapid, Ultra-robust Proteomics. *Mol Cell Proteomics* 2018;17:2284-96.

Beck M, Schmidt A, Malmstroem J, Claassen M, Ori A, Szymborska A et al. The quantitative proteome of a human cell line. *Mol Syst Biol* 2011;7:549.

Geyer PE, Kulak NA, Pichler G, Holdt LM, Teupser D, Mann M. Plasma Proteome Profiling to Assess Human Health and Disease. *Cell Syst* 2016;2:185-95.

Geyer PE, Wewer Albrechtsen NJ, Tyanova S, Grassl N, Iepsen EW, Lundgren J et al., Proteomics reveals the effects of sustained weight loss on the human plasma proteome. *Mol Syst Biol* 2016;12:901.

Geyer PE, Holdt LM, Teupser D, Mann M. Revisiting biomarker discovery by plasma proteomics. *Mol Syst Biol* 2017; 13:942.

Hupo – Human Proteome Organization. Available from: URL:<<https://www.hupo.org>>

Hupo – Human Proteome Organization. The Human Proteome Project (HPP). Available from: URL:<<https://www.hupo.org/human-proteome-project>>

Milo R. What is the total number of protein molecules per cell volume? A call to rethink some published values. *Bioessays* 2013;35:1050-5.

Glycomics

Bonten MJM, Huijts SM, Bolkenbaas M, Webber C, Patterson S, Gault S et al. Polysaccharide Conjugate Vaccine against Pneumococcal Pneumonia in Adults. *N Engl J Med* 2015;372:1114–25.

Brooks S.A. Lectin Histochemistry: Historical Perspectives, State of the Art, and the Future. *Methods Mol Biol* 2017;1560:93–107.

Callewaert N, Van Vlierberghe H, Van Hecke A, Laroy W, Delanghe J, Contreras R. Noninvasive diagnosis of liver cirrhosis using DNA sequencer–based total serum protein glycomics. *Nat Med* 2004;10:429–34.

de Graaf M, Fouchier RAM. Role of receptor binding specificity in influenza A virus transmission and pathogenesis. *EMBO J* 2014;33:823-41.

Guile GR, Rudd PM, Wing DR, Prime SB, Dwek RA. A rapid high-resolution high-performance liquid chromatographic method for separating glycan mixtures and analyzing oligosaccharide profiles. *Anal Biochem* 1996;240:210–26.

Kuster B, Hunter AP, Wheeler SF, Dwek RA, Harvey DJ. Structural determination of N-linked carbohydrates by matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry following enzymatic release within sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide electrophoresis gels: application to species-specific glycosylation of alpha1-acid glycoprotein. *Electrophoresis* 1998;19:1950–9.

Leverly SB, Steentoft C, Halim A, Narimatsu Y, Clausen H, Vakhrushev SY. Advances in mass spectrometry driven O-glycoproteomics. *Biochim Biophys Acta* 2015;1850:33–42.

Magnani JL, Brockhaus M, Smith DF, Ginsburg V, Blaszczyk M, Mitchell KF et al. A monosialoganglioside is a monoclonal antibody-defined antigen of colon carcinoma. *Science* 1981;212:55–6.

Narimatsu, Y, Joshi HJ, Nason R, Van Coillie J, Karlsson R, Sun L et al. An Atlas of Human Glycosylation Pathways Enables Display of the Human Glycome by Gene Engineered Cells. *Mol Cell* 2019;75:394–407.

Pinho SS, Reis CA. Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications. *Nat Rev Cancer* 2015;15:540–55.

Posey AD, Schwab RD, Boesteanu AC, Steentoft C, Mandel U, Engels B et al. Engineered CAR T Cells Targeting the Cancer-Associated Tn-Glycoform of the Membrane Mucin MUC1 Control Adenocarcinoma. *Immunity* 2016;44:1444–54.

Rosalki SB. Bone-origin alkaline phosphatase in plasma by wheat-germ lectin methods in bone disease. *Clin Chim Acta* 1994;226:143–50.

Schwarz, F, Aebi, M. Mechanisms and principles of N-linked protein glycosylation. *Curr Opin Struct Biol* 2011;21:576–82.

Vanderschaeghe D, Meuris L, Raes T, Grootaert H, Van Hecke A, Verhelst X et al. Endoglycosidase S enables a highly simplified clinical chemistry assay procedure for direct assessment of serum IgG undergalactosylation in chronic inflammatory disease. *bioRxiv* 2018.

Varki A, Cummings RD, Esko JD, Freeze HH, Stanley P, Bertozzi CR et al. *Essentials of Glycobiology*. 2009. Available from: URL:< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK453042/>>

Varki A, Editor E, Cummings RD, Esko JD, Stanley P, Hart GW et al. *Essentials of Glycobiology*. NCBI Bookshelf 2015-2017. Available from: URL:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK310274/>>

Verhelst X, Vanderschaeghe D, Castéra L, Raes T, Geerts A, Francoz C et al. A glycomics-based test predicts the development of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Clin Cancer Res* 2017;23:11.

Metabolomics

Balog J, Szabo LS, Kinross J, Lewis M, Muirhead L, Veselkov KA et al., Intraoperative tissue identification using rapid evaporative ionization mass spectrometry. *Sci Transl Med* 2013;5:194ra93.

Lu W, Su X, Klein MS, Lewis IA, Fiehn O, Rabinowitz JD. Metabolite Measurement: Pitfalls to Avoid and Practices to Follow. *Annu Rev Biochem*, 2017;86:277-304.

Patti GJ, Yanes O, Siuzdak G. Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012;13:263-9.

Sun RC, Fan TWM, Deng P, Higashi RM, Lane AN, Le AT et al. Noninvasive liquid diet delivery of stable isotopes into mouse models for deep metabolic network tracing. *Nat Commun* 2017;8:1646.

van Veldhoven K, Kiss A, Keski-Rahkonen P, Robinot N, Scalbert A, Cullinan P et al. Impact of Short-Term Traffic-Related Air Pollution on the Metabolome - Results From Two Metabolome-Wide Experimental Studies. *Environ Int* 2019;123:124-31.

Lipidomics

EU - European Regional Development Fund. EURLIPIDS: a border-crossing platform for Lipid Research. Available from: URL:< <https://www.interregemr.eu/projects/eurlipids-a-virtual-platform-for-lipid-research-en>>

Euro Fed Lipid – European Federation for the Science and Technology of Lipids. Available from: URL:<<http://www.eurofedlipid.org>>

ILS - International Lipidomics Society. Available from: URL:<<https://lipidomicsociety.org>>

Liebisch G, Ahrends R, Arita M. Lipidomics needs more standardization. *Nat Metab* 2019;1: 745–7.

LipidMAPS. 2021. Available from: URL:<<https://www.lipidmaps.org>>

LSI - Lipidomics Standards Initiative. Available from: URL:<<https://lipidomics-standards-initiative.org>>

Sam Wong. "Intelligent knife" tells surgeon if tissue is cancerous. The Imperial College London 2013. Available from: URL:<<https://www.imperial.ac.uk/news/126106/intelligent-knife-tells-surgeon-tissue-cancerous/>>

Microbiomics

Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473:174-80.

Costea PI, Hildebrand F, Manimozhiyan A, Bäckhed F, Blaser MJ, Bushman FD et al. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. *Nat Microbiol* 2017;3:8-16.

Erickson AR, Cantarel BL, Lamendella R, Darzi, Y, Mongodin EF, Pan C et al. Integrated Metagenomics/Metaproteomics Reveals Human Host-Microbiota Signatures of Crohn's Disease. *PLoS One* 2012;7:e49138.

Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science* 2016;352:560-4.

Falony G, Vandeputte D, Caenepeel C, Vieira-Silva S, Daryoush T, Vermeire S et al. The human microbiome in health and disease: hype or hope. *Acta Clin Belg* 2019;1-12.

Falony G, Vieira-Silva S, Raes J. Richness and ecosystem development across faecal snapshots of the gut microbiota. *Nat Microbiol* 2018;3:526-8.

Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, Falony G, Le Chatelier E, Sunagawa S et al. Disentangling the effects of type 2 diabetes and metformin on the human gut microbiota. *Nature* 2015;528:262-6.

Garrett WS. Cancer and the microbiota. *Science* 2015;348:80-6.

Gilbert JA, Blaser MJ, Caporaso JG, Jansson JK, Lynch SV, Knight R. Current understanding of the human microbiome. *Nat Med* 2018;24:392-400.

He Y, Wu W, Wu S, Zheng HM, Li P, Sheng HF et al. Linking gut microbiota, metabolic syndrome and economic status based on a population-level analysis. *Microbiome* 2018;6:172.

Huttenhower C, Knight R, Brown CT, Caporaso JG, Clemente JC, Gevers D et al. Advancing the microbiome research community. *Cell* 2014;159:227-30.

Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The Integrative Human Microbiome Project. *Nature* 2019;569:641-8.

Knight R, Ley RE, Raes J, Grice EA. Expanding the scope and scale of microbiome research. *Genome Biol* 2019;20:191.

Kolmeder CA, Salojärvi J, Ritari J, de Been M, Raes J, Falony G et al. Faecal Metaproteomic Analysis Reveals a Personalized and Stable Functional Microbiome and Limited Effects of a Probiotic Intervention in Adults. *PLoS One* 2016;11:e0153294.

Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med* 2016;8:51.

Pedersen HK, Gudmundsdottir V, Nielsen HB, Hyotylainen T, Nielsen T, Forslund K et al. Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature* 2016; 535:376-81.

Qin J, Li R, Raes J, Arumugan M, Burgdorf KS, Manichanh C et al. A human gut microbial gene catalog established by deep metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464:59-65.

Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012;490:55-60.

Raes J. Microbiome-based companion diagnostics: no longer science fiction? *Gut Online First* 2016;10:311015.

Sabino J, Vieira-Silva S, Machiels K, Joossens M, Falony G, Ballet V et al. Primary sclerosing cholangitis is characterized by intestinal dysbiosis independent from inflammatory bowel disease. *Gut* 2016;65:1681-9.

Sommer F, Anderson JM, Bharti R, Raes J, Rosenstiel P. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease. *Nat Rev Microbiol* 2017;15:630-8.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The Human Microbiome Project *Nature* 2007;449:804–10.

Valles-Colomer M, Falony G, Darzi Y, Tigchelaar EF, Wang J, Tito RY et al. The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. *Nat Microbiol* 2019;4:623-32.

Van den Abbeele P. Modulation of the intestinal mucosal microbiota by functional foods using novel in vitro and in vivo models. 2011. Available from: URL:<<https://biblio.ugent.be/publication/1226912>>

Vandeputte D, Falony G, Vieira-Silva S, Tito RY, Joossens M, Raes J. Stool consistency is strongly associated with gut microbiota richness and composition, enterotypes and bacterial growth rates. *Gut* 2016;65:57-62.

Vandeputte D, Kathagen G, D'hoë K, Vieira-Silva S, Valles-Colomer M, Sabino J et al. Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load. *Nature* 2017;551:507-11.

Vázquez-Baeza Y, Callewaert C, Debelius J, Hyde E, Marotz C, Morton JT et al. Impacts of the Human Gut Microbiome on Therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2018;58:253-270.

Vieira-Silva S, Sabino J, Valles-Colomer M, Falony G, Kathagen G, Caenepeel C et al. Quantitative microbiome profiling disentangles inflammation- and bile duct obstruction-associated microbiota alterations across PSC/IBD diagnoses. *Nat Microbiol* 2019;4:1826-31.

Vrancken G, Gregory AC, Huys GRB, Faust K, Raes J. Synthetic ecology of the human gut microbiota. *Nat Rev Microbiol* 2019;17:754-63.

Exposomics

Barouki R, Audouze K, Coumoul X, Demenais F, Gauguier D. Integration of the human exposome with the human genome to advance medicine. *Biochimie* 2018;152:155–8.

Buck Louis GM, Smarr MM, Patel CJ. The Exposome Research Paradigm: an Opportunity to Understand the Environmental Basis for Human Health and Disease. *Current Environmental Health Reports* 2017;4:89–98.

Burbank AJ, Sood AK, Kesic MJ, Peden DB, Hernandez ML. Environmental determinants of allergy and asthma in early life. *The Journal of Allergy Clinical Immunology* 2017;140:1–12.

Chen R, Snyder M. Promise of personalized omics to precision medicine. *Systems Biology and Medicine* 2013;5:73–82.

Croes K, De Coster S, De Galan S, Morrens B, Loots I, Van de Mierop E et al. Health effects in the Flemish population in relation to low levels of mercury exposure: from organ to transcriptome level. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2014;217:239–47.

Curto A, Donaire-Gonzalez D, Barrera-Gómez J, Marshall JD, Nieuwenhuijsen MJ, Wellenius GA et al. Performance of low-cost monitors to assess household air pollution. *Environmental Research* 2018;163:53–63.

Dunton GF, Liao Y, Intille S, Wolch J, Pentz MA. Physical and social contextual influences on children's leisure-time physical activity: an ecological momentary assessment study. *Journal of Physical Activity & Health* 2011;8:103-8.

Gibson G. Wellness and Health Omics Linked to the Environment: The WHOLE Approach to Personalized Medicine. In *Advances in experimental medicine and biology* 2014;799:1–14.

Gulliver J, Morley D, Dunster C, McCrea A, van Nunen E, Tsai M.-Y et al. Land use regression models for the oxidative potential of fine particles (PM 2.5) in five European areas. *Environmental Research* 2018;160:247–55.

Jeong A, Fiorito G, Keski-Rahkonen P, Imboden M, Kis A, Robinot N et al. Perturbation of metabolic pathways mediates the association of air pollutants with asthma and cardiovascular diseases. *Environment International* 2018;119:334–45.

- Khreis H, de Hoogh K, Nieuwenhuijsen MJ. Full-chain health impact assessment of traffic-related air pollution and childhood asthma. *Environment International* 2018;114:365–75.
- Koppen G, Bloemen K, Colles A, Nelen V, Desager K, Schoeters G. Exposure to traffic-related air pollutants in the perinatal period of life in relation to respiratory health in infancy. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 2011;41:22.
- Lioy PJ, Rappaport SM. Exposure science and the exposome: an opportunity for coherence in the environmental health sciences. *Environmental Health Perspectives* 2011;119:A466-7.
- McGinnis DP, Brownstein JS, Patel CJ. Environment-Wide Association Study of Blood Pressure in the National Health and Nutrition Examination Survey (1999–2012). *Scientific Reports* 2016;6:30373.
- Nieuwenhuijsen MJ, Donaire-Gonzalez D, Foraster M, Martinez D, Cisneros A. Using personal sensors to assess the exposome and acute health effects. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2014;11:7805–19.
- North ML, Ahmed M, Salehi S, Jayasinghe K, Tilak M, Wu J et al. Exposomics-based Analysis of Environmental Factors Associated with Forced Expiratory Volume in 1 Second at 6 Months Post Lung Transplantation. *Annals of the American Thoracic Society* 2018;15:S122–S122.
- Patel CJ, Bhattacharya J, Butte AJ. An Environment-Wide Association Study (EWAS) on type 2 diabetes mellitus. *PLoS One* 2010;5:e10746.
- Patel CJ, Chen R, Kodama K, Ioannidis J PA, Butte AJ. Systematic identification of interaction effects between genome- and environment-wide associations in type 2 diabetes mellitus. *Human Genetics* 2013;132:495–508.
- Robinson O, Tamayo I, de Castro M, Valentin A, Giorgis-Allemand L, Hjertager Krog N et al. The Urban Exposome during Pregnancy and Its Socioeconomic Determinants. *Environmental Health Perspectives* 2018;126:7.
- Schoeters G, Govarts E, Bruckers L, Den Hond E, Nelen V, De Henauw S et al. Three cycles of human biomonitoring in Flanders – Time trends observed in the Flemish Environment and Health Study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2017;220:36–45.
- Steckling N, Gotti A, Bose-O'Reilly S, Chapizanis D, Costopoulou D, De Vocht F et al. Biomarkers of exposure in environment-wide association studies - Opportunities to decode the exposome using human biomonitoring data. *Environmental Research* 2018;164:597–624.
- Stratakis N, Roumeliotaki T, Oken E, Ballester F, Barros H, Basterrechea M et al. Fish and seafood consumption during pregnancy and the risk of asthma and allergic rhinitis in childhood: a pooled analysis of 18 European and US birth cohorts. *International Journal of Epidemiology* 2017;46:1465–77.
- van Leeuwen DM, Gottschalk RWH, Schoeters G, van Larebeke NA, Nelen V, Baeyens W et al. Transcriptome analysis in peripheral blood of humans exposed to environmental carcinogens: a promising new biomarker in environmental health studies. *Environmental Health Perspectives* 2008;116:1519–25.
- Vineis P, Chadeau-Hyam M, Gmuender H, Gulliver J, Herceg Z, Kleinjans J et al. The exposome in practice: Design of the EXPOsOMICS project. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2017;220:142–51.

Vrijheid M, Slama R, Robinson O, Chatzi L, Coen M, van den Hazel P et al. The human early-life exposome (HELIX): project rationale and design. *Environmental Health Perspectives* 2014;122:535–44.

Wang A, Gerona RR, Schwartz JM, Lin T, Sirota M, Morello-Frosch R et al. A Suspect Screening Method for Characterizing Multiple Chemical Exposures among a Demographically Diverse Population of Pregnant Women in San Francisco. *Environmental Health Perspectives* 2018;126:077009.

Wild CP. Complementing the Genome with an Exposome: The Outstanding Challenge of Environmental Exposure Measurement in Molecular Epidemiology. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 2005;14:1847–50.

Winckelmans E, Vrijens K, Tsamou M, Janssen BG, Saenen ND, Roels HA et al. Newborn sex-specific transcriptome signatures and gestational exposure to fine particles: findings from the ENVIRONAGE birth cohort. *Environmental Health* 2017;16:52.

Wishart DS. Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine. *Nature Reviews Drug Discovery* 2016;15:473–84.

Zhao LP, Fan W, Goodman G, Radich J, Martin P. Deciphering Genome Environment Wide Interactions Using Exposed Subjects Only. *Genetic Epidemiology* 2015;39:334–46.

Big Data en artificiële intelligentie

Christiansen EM, Yang SJ, Ando DM, Javaherian A, Skibinksi G, Lipnick S et al. In silico labeling: predicting fluorescent labels in unlabeled images. *Cell* 2018;173:792-803.

Esteva A, Kuprel B, Novoa RA, Ko J, Swetter SM, Blau HM et al. Dermatologist-level classification of skin cancer with deep neural networks. *Nature* 2017;542:115-8.

Gut G, Herrmann MD, Pelkmans L. Multiplexed protein maps link subcellular organization to cellular states. *Science* 2018;361:eaar7042.

Krizhevsky A, Sutskever I, Hinton GE. ImageNet Classification with Deep Convolutional Neural Networks. *Nips* 2012;1:1097-105.

Horvath S, Raj K. DNA methylation based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nat Rev Genet* 2018;19:371-84.

Nam JG, Park S, Hwang EJ, Lee JH, Jin KN, Lim KY et al. Development and validation of deep learning-based automatic detection algorithm for malignant pulmonary nodules on chest radiographs. *Radiology* 2017;284:574-82.

Ota S, Horisaki R, Kawamura Y, Ugawa M, Sato I, Hashimoto K et al. Ghost cytometry. *Science* 2018;360:1246-51.

Topol EJ. High performance medicine: the convergence of human and artificial intelligence. *Nature Medicine* 2019;25:44-56.

Leendert van der Ent L. Alleen open systemen zijn acceptabel. *PT Industrieel Management* 2018.

Ethische en wettelijke beperkingen

Badalato L, Kalokairinou L, Borry P. Third party interpretation of raw genetic data: an ethical exploration. *European Journal of Human Genetics* 2017;25:1189-94.

DTL – Dutch Techcentre for life sciences. Available from: URL:<<https://www.dtls.nl/fair-data/personal-health-train/>>

European Union. Regulation (EU) 2016/679 of the European Parliament and of the Council of 27 April 2016 on the protection of natural persons with regard to the processing of personal data and on the free movement of such data, and repealing Directive 95/46/EC (General Data Protection Regulation). OJ L 119;2016:1-88.

Gymrek M, McGuire AL, Golan D, Halperin E, Erlich Y. Identifying personal genomes by surname inference. *Science* 2013;339:321-4.

Henneman L, Borry P, Chokoshvili D, Cornel MC, van El CG, Forzano F, et al. Responsible implementation of expanded carrier screening. *European Journal of Human Genetics* 2016;24:e1e12.

Horne J, Madill J, O'Connor C, Shelley J, Gilliland J. A Systematic Review of Genetic Testing and Lifestyle Behaviour Change: Are We Using High-Quality Genetic Interventions and Considering Behaviour Change Theory? *Lifestyle Genomics* 2018;11:49-63.

Marelli L, Testa G. Scrutinizing the EU General Data Protection Regulation. *Science* 2018;360:496-8.

Nielsen DE, Carere DA, Wang C, Roberts JS, Green RC. Diet and exercise changes following direct-to-consumer personal genomic testing. *BMC Med Genomics* 2017;10:24.

Rivard L. Case study in Lethal Diseases and autonomy. 2014. Available from: URL:<<https://www.nature.com/scitable/forums/genetics-generation/case-study-in-lethal-diseases-and-autonomy-114573719>>

Shabani M, Borry P. Rules for processing genetic data for research purposes in view of the new EU General Data Protection Regulation. *European Journal of Human Genetics* 2018;26:149-56.

Shabani M, Vears D, Borry P. Raw Genomic Data: Storage, Access, and Sharing. *Trends in Genetics* 2018;34:8-10.

Vears DF, Niemiec E, Howard HC, Borry P. How do consent forms for diagnostic high-throughput sequencing address unsolicited and secondary findings? A content analysis. *Clinical genetics* 2018;94:321-9.

Wauters A, Van Hoyweghen I. Concerns about Genetic Discrimination after Regulation: A Qualitative Study of the Situation Regarding BRCA and Huntington's Disease in Belgium. *Laws* 2018;7:1-16.

Conclusies en aanbevelingen

Achten V, Berghman J, Boon R, Brendonck L, Burms A, Buyst E et al. Hoe word ik Einstein of Da Vinci. Lannoo Campus 2015.

SHC – Superior Health Council. Expanded carrier screening in a reproductive context. Towards a responsible implementation in the healthcare system. Brussels: SHC; 2017. Advice No. 9240.

VI. SAMENSTELLING VAN DE WERKGROEP

De samenstelling van het Bureau en het College alsook de lijst met de bij KB benoemde experts is beschikbaar op de website van de HGR: [wie zijn we?](#).

Al de experts hebben **op persoonlijke titel** aan de werkgroep deelgenomen. Hun algemene belangenverklaringen alsook die van de leden van het Bureau en het College kunnen worden geraadpleegd op de website van de HGR ([belangenconflicten](#)).

De volgende experts hebben hun medewerking en goedkeuring verleend bij het opstellen van het advies. Het voorzitterschap werd waargenomen door **Lode GODDERIS** en het wetenschappelijk secretariaat door Marleen VAN DEN BRANDE.

AERTS Stein	Computationele biologie	KULeuven/VIB
BAGGERMAN Geert	Proteomics	VITO/UA
BENOIT Valérie	Menselijke genetica	IPG
CALLEWAERT Nico	Glycomics	UGent/VIB
DE BAERE Elfride	Medische genetica en genomica	UGent/UZGent
DEVISCH Ignaas	Filosofie van de geneeskunde en ethiek	UGent
GHESQUIERE Bart	Metabolomics	KULeuven
GODDERIS Lode	Beroeps- en milieugeneeskunde	KULeuven/IDEWE
IMPENS Francis	Proteomics	UGent/VIB
JESCHKE Jana	Kankerepigenetica	ULB
KOPPEN Gudrun	Metabolomics	VITO
LAMBRECHTS Diether	Kankerbiologie - Translationele genetica	KULeuven/VIB
MARTENS Lennart	Systeembioïologie	UGent/VIB
MATTHIJS Gert	Menselijke genetica en genomica	UZ Leuven
MESTDAGH Pieter	Kankergenomica	UGent
RAES Jeroen	Moleculaire bacteriologie	KULeuven
SCHOETERS Greet	Milieuhygiëne	VITO
SHABANI Mahsa	Biomedische ethiek & recht	UGent
SWINNEN Johan	Lipidemetabolisme en kanker	KULeuven
VANDEN BERGHE Wim	Biomedische wetenschappen	UA
VAN DER ENT Leendert	Communicatie in wetenschap en technologie	
VAN LAREBEKE Nicolas	Toxicologie	UGent/VUB
VANOIRBEEK Jeroen	Milieu en gezondheid	KULeuven
VERELLEN DUMOULIN Christine	Menselijke genetica	IPG/UCL

De permanente werkgroep chemische agentia heeft het advies goedgekeurd. Het voorzitterschap van de permanente werkgroep werd waargenomen door **Luc HENS** en het wetenschappelijk secretariaat door Marleen VAN DEN BRANDE.

ADANG Dirk	Menselijke ecologie	Universiteit Hasselt
FRAEYMAN Norbert	Toxicologie en milieutoxicologie	UGent
HEILIER Jean-François	Toxicologie	SPAQuE
HENS Luc	Menselijke ecologie	VITO
KEUNE Hans	Gezondheid en milieu	UA/INBO
PLUSQUIN Michelle	Gezondheid en milieu	Universiteit Hasselt
SMAGGHE Guy	Ecotoxicologie	UGent
STEURBAUT Walter	Menselijke blootstelling	UGent

De volgende administraties/ministeriële kabinetten werden gehoord:

DEHON Vincent	DGEM Productbeleid en chemische producten, MRB Biociden	FOD Volksgezondheid, veiligheid van de voedstelketen en leefmilieu
---------------	---	--

De volgende experts hebben een *peer review* van het advies uitgevoerd, maar waren niet betrokken bij de goedkeuring ervan.

STIERUM Rob	Systeemtoxicologie	TNO Zeist
-------------	--------------------	-----------

Dit advies werd door een extern vertaalbureau vertaald.

Over de Hoge Gezondheidsraad (HGR)

De Hoge Gezondheidsraad is een federaal adviesorgaan waarvan de FOD Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu het secretariaat verzekert. Hij werd opgericht in 1849 en geeft wetenschappelijke adviezen i.v.m. de volksgezondheid aan de ministers van Volksgezondheid en van Leefmilieu, aan hun administraties en aan enkele agentschappen. Hij doet dit op vraag of op eigen initiatief. De HGR probeert het beleid inzake volksgezondheid de weg te wijzen op basis van de recentste wetenschappelijke kennis.

Naast een intern secretariaat van een 25-tal medewerkers, doet de Raad beroep op een uitgebreid netwerk van meer dan 500 experten (universiteitsprofessoren, medewerkers van wetenschappelijke instellingen, praktijkbeoefenaars, enz.), waarvan er 300 tot expert van de Raad zijn benoemd bij KB; de experts komen in multidisciplinaire werkgroepen samen om de adviezen uit te werken.

Als officieel orgaan vindt de Hoge Gezondheidsraad het van fundamenteel belang de neutraliteit en onpartijdigheid te garanderen van de wetenschappelijke adviezen die hij aflevert. Daartoe heeft hij zich voorzien van een structuur, regels en procedures die toelaten doeltreffend tegemoet te komen aan deze behoeften bij iedere stap van het tot stand komen van de adviezen. De sleutelmomenten hierin zijn de voorafgaande analyse van de aanvraag, de aanduiding van de deskundigen voor de werkgroepen, het instellen van een systeem van beheer van mogelijke belangenconflicten (gebaseerd op belangenverklaringen, onderzoek van mogelijke belangenconflicten en een Commissie voor Deontologie) en de uiteindelijke validatie van de adviezen door het College (eindbeslissingsorgaan van de HGR, samengesteld uit 30 leden van de pool van benoemde experten). Dit coherent geheel moet toelaten adviezen af te leveren die gesteund zijn op de hoogst mogelijke beschikbare wetenschappelijke expertise binnen de grootst mogelijke onpartijdigheid.

Na validatie door het College worden de adviezen overgemaakt aan de aanvrager en aan de minister van Volksgezondheid en worden ze gepubliceerd op de website (www.hgr-css.be). Daarnaast wordt een aantal onder hen gecommuniceerd naar de pers en naar bepaalde doelgroepen (beroepsbeoefenaars in de gezondheidssector, universiteiten, politiek, consumentenorganisaties, enz.).

Indien u op de hoogte wilt blijven van de activiteiten en publicaties van de HGR kunt u een mail sturen naar info.hgr-css@health.belgium.be.