



# Metabolomics

---

Van kleine moleculen  
naar grote mogelijkheden

Dr. P.W. Lindenburg

## Colofon

© Copyright Peter Lindenburg 2019

Hogeschool Leiden  
Zernikedreef 11  
2333 CK Leiden  
[www.hsleiden.nl](http://www.hsleiden.nl)

ISBN: 9789082138245

## **Uitgever**

Hogeschool Leiden

## **Vormgeving**

UWMERK!WAARDIG, Rotterdam

## **Drukwerk**

Tuijtel, Hardinxveld-Giessendam

Metabolomics. Van kleine moleculen naar grote mogelijkheden.  
Peter Lindenburg



# Metabolomics

Van kleine moleculen  
naar grote mogelijkheden



Rede uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van lector Metabolomics,  
Hogeschool Leiden op woensdag 10 april 2019 door dr. P.W. Lindenburg



# Inhoudsopgave

- 
1. De hielprik: een prille vorm van metabolomics
  2. Het systeemperspectief
  3. Metabolisme is een complex chemisch systeem
  4. Analytische chemie: drijvende kracht achter metabolomics
  5. Het lectoraat Metabolomics: verbinding tussen de analytische chemie van de hogeschool en die van de universiteit
  6. Metabolomics onderzoek bij het Leiden Academic Centre for Drug Research
  7. Metabolomics bij het Leiden Centre for Applied Bioscience
  8. Metabolomics van het microbioom
  9. Metabolomics van voeding
  10. Metabolomics van de vingerafdruk
  11. Metabolomics van livers-on-a-chip
  12. Environmental metabolomics
  13. Metabolomics en onderwijs
  14. De schoonheid van complexiteit
  15. Dankwoord
  16. Bronvermelding
  17. Curriculum vitae

Leden van het College van Bestuur van Hogeschool Leiden, mijnheer de directeur van de Faculteit Science & Technology, beste docenten, studenten, collega's, lieve vrienden en familie, zeer gewaardeerde toehoorders.

# 1. De hielprik: een prille vorm van metabolomics

Als ik op een feestje vertel wat voor werk ik doe krijg ik vaak opgetrokken wenkbrauwen te zien. Ik ontwikkel namelijk analytisch-chemische methoden om metabolomics-onderzoek mee te doen. Zonder het door te hebben komt vrijwel iedereen in Nederland al op zeer jonge leeftijd in aanraking met zowel analytische chemie als een eenvoudige vorm van metabolomics.



*Figuur 1 Verzamelen van bloed uit de hiel van pasgeborenen op een speciaal soort vloeipapier*

U zult zich, als u kinderen heeft, vast nog de hielprik herinneren waaraan uw pasgeboren kind werd onderworpen. Met een kleine prik in de hiel worden binnen een paar dagen na de geboorte enkele druppels bloed verzameld op een speciaal soort vloeipapier [1]. Op de foto ziet u hoe deze procedure wordt uitgevoerd bij mijn dochters Yfke en Rosa, op dat moment vijf dagen oud. Al sinds 1974 wordt de hielprik bij vrijwel alle kinderen in Nederland uitgevoerd.



Het vloeipapier met het bloedmonster wordt naar een laboratorium gestuurd, waar met een analytisch-chemisch methode metabolieten worden gemeten om te bepalen of de baby lijdt aan een stofwisselingsziekte. Een voorbeeld van zo'n stofwisselingsziekte is fenyktonurie.

Fenyktonurie is een erfelijke stofwisselingsziekte. In het menselijk lichaam komt van nature het kleine molecuul fenyalanine voor. Dit aminozuur is een stofwisselingsproduct, ook wel metaboliet genoemd. Fenyalanine is onder andere nodig voor de aanmaak van neurotransmitters, die onze hersenen laten functioneren. Het is ook de grondstof voor een andere belangrijke metaboliet, tyrosine. De omzetting van fenyalanine naar tyrosine wordt uitgevoerd door het enzym fenyalaninehydroxylase. Het is dit enzym dat niet functioneert bij kinderen met fenyktonurie, die geboren worden met een defect in het gen dat hiervoor codeert. Het gevolg is dat fenyalanine niet meer wordt omgezet en zich dus gaat ophopen. In hoge concentraties is fenyalanine giftig en de gevolgen zijn desastreus voor de baby: al binnen enkele weken treedt onherstelbare hersenschade op.

We moeten dus zo vroeg mogelijk in het leven van een pasgeborene vaststellen of het lijdt aan fenyktonurie. Gelukkig kan dit door de concentratie van fenyalanine in het bloed te bepalen. Is de concentratie boven een bepaalde waarde, dan is er sprake van fenyktonurie. Als de baby vervolgens een dieet volgt waarin zo min mogelijk fenyalanine zit (een eiwitarm dieet), dan zal fenyalanine geen giftige concentratie bereiken, wordt schade voorkomen en heeft de pasgeborene een veel gezonder leven voor de boeg.

Fenyktonurie is een relatief eenvoudige ziekte: de oorzaak is duidelijk, het is duidelijk hoe de diagnose gesteld kan worden en de behandeling is duidelijk. De reden hiervan is het gegeven dat fenyktonurie terug te voeren is op één enkel defect gen, waardoor de omzetting van één enkele metaboliet niet plaatsvindt; het is een zogenaamde monofactoriële ziekte.

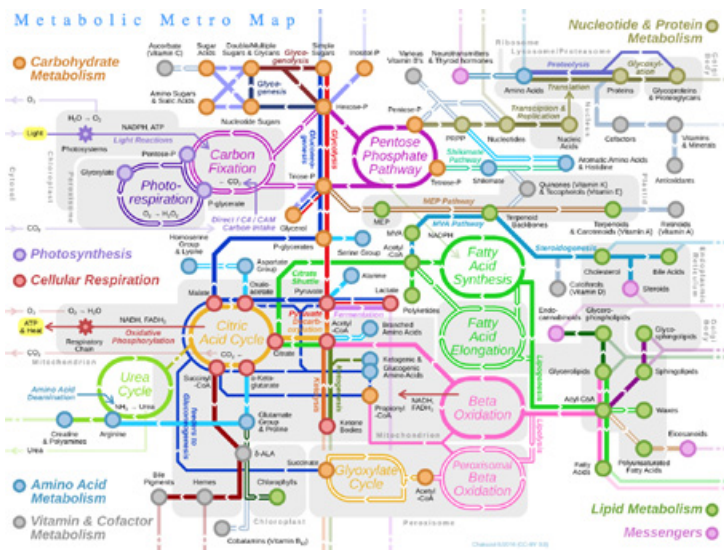
Daarmee wil ik natuurlijk niet zeggen dat het eenvoudig is om fenyktonurie te hebben en wij waren dan ook heel blij met de goede uitslag van de analyse van de hielprik van onze beide dochters.



## 2. Het systeemperspectief

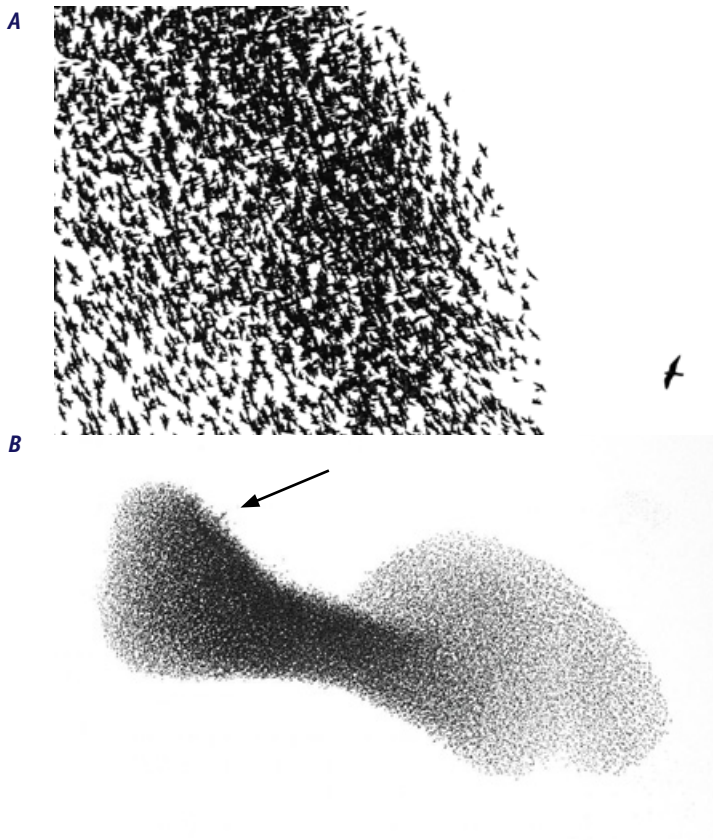
Er zijn echter nogal wat ziektes waarachter een veel complexere problematiek schuilgaat. Een voorbeeld hiervan is astma. Dit is een veelvoorkomende chronische ontstekingsziekte van de luchtwegen. Deze wordt veroorzaakt door een combinatie van complexe en onvoldoende begrepen genetische en omgevingsfactoren. Er is dus geen 'astma-gen' zoals er wel een enkel gen is dat, indien defect, verantwoordelijk is voor fenyktonurie [2]. Er bestaat geen genezing van astma, maar de symptomen kunnen wel worden behandeld. Andere voorbeelden van dit soort ziektes zijn diabetes, de ziekte van Alzheimer en hart- en vaatziektes. Dit zijn multifactoriële ziektes, die we alleen kunnen begrijpen als we alle processen die eraan ten grondslag liggen in samenhang bestuderen.

Figuur 2 toont u een vereenvoudigd schema van het metabolisme in de vorm van een metronet. Ondanks dat dit een sterk vereenvoudigde weergave is van het metabolisme in de mens, is de complexiteit ervan nog steeds indrukwekkend. Als in een deel van het metronetwerk problemen optreden, waardoor sommige metro's niet of te laat aankomen, kan dit onvoorspelbare effecten hebben in andere gedeeltes van het netwerk. Het verband tussen oorzaak en gevolg van dit soort effecten kan alleen gelegd worden als het hele metronet wordt beschouwd.



Figuur 2 De 'Metabolic Metro Map', een schematische weergave van het metabolisme van de mens (bron: [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org) [3])

Ter illustratie een voorbeeld uit de wereld van de vogels, waar ik al mijn hele leven door gefascineerd ben. Figuur 3 toont een wolk spreeuwen (*Sturnus vulgaris*). Ze worden verstoord door een roofvogel, een slechtvalk (*Falco peregrinus*). Vanuit het niets doemt hij op bij de spreeuwen, die meteen gaan zwermen. Door een continu van vorm veranderende wervelende wolk te vormen maken ze het voor de slechtvalk heel moeilijk om zich te concentreren op één enkel individu.



**Figuur 3** Een zwerm spreeuwen (*Sturnus vulgaris*) reageert op een slechtvalk (*Falco peregrinus*)

A) deel van een spreeuwnzwerm met een slechtvalk. Foto: Tobias Dansen.

B) een gehele spreeuwnzwerm met slechtvalk aangegeven met pijl.

Foto: Manuel Presti.

Slechts een deel van de spreeuwen reageert direct op de slechtvalk (Figuur 3A). Een groot deel van de spreeuwen heeft de slechtvalk echter helemaal niet gezien. Zij reageren slechts op het gedrag van hun burens. Binnen de wolk spreeuwen vindt razendsnelle communicatie plaats. Er zijn ontelbaar veel interacties die leiden tot een wervelende bal spreeuwen die allerlei fantastische vormen kan aannemen, zoals te zien in Figuur 3B. Zouden wij slechts één of enkele individuele spreeuwen bestuderen, dan kunnen we de complexiteit van de interacties in de spreeuwenwolk nooit volledig begrijpen. Sterker nog, we zouden de spreeuwenwolk niet eens waarnemen. We kunnen spreeuwenzwermen alleen goed bestuderen door naar het geheel te kijken.

Er wordt overigens veel onderzoek gedaan naar spreeuwenzwermen door biologen, engineers, natuurkundigen en wiskundigen [4]. Men denkt dat de patronen van spreeuwenzwermen universeel zijn en dat het begrijpen ervan fundamentele inzichten kan opleveren over collectieve bewegingen op andere niveaus, zoals migratie van cellen, gedrag van bacteriekolonies en zelfs complexe natuurkundige en chemische systemen.

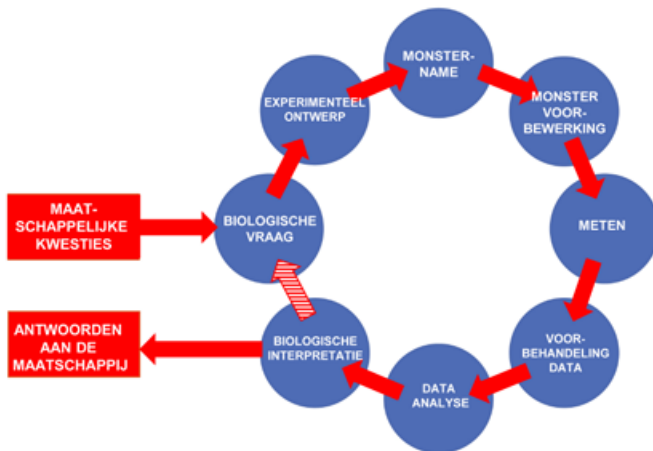
### 3. Metabolisme is een complex chemisch systeem

Onze stofwisseling, oftewel ons metabolisme, is een complex chemisch systeem. Metabolieten zijn kleine moleculen die zowel intermediaire verbindingen als eindproducten van metabolisme zijn. Alle metabolieten tezamen in een specifieke cel, orgaan of organisme op een bepaald tijdstip wordt het metabooloom genoemd. Iedere cel, ieder weefsel, ieder orgaan, ieder organisme en iedere community heeft zijn eigen metabooloom. De samenstelling van het metabooloom varieert en is afhankelijk van de staat waarin het biologische systeem zich bevindt [5]. Metabolomics is de wetenschappelijke studie van het metabooloom van een gegeven biologisch systeem. Hierin gaat vaak ook veel aandacht uit naar andere kleine moleculen die het metabolisme kunnen beïnvloeden, zoals geneesmiddelen, voedingscomponenten en vervuilingen [6]. Daarbij stelt de analytische chemie ons in staat complexe multifactoriële processen binnen het metabooloom te onderzoeken.

Het metabooloom is een verzameling kleine moleculen met grote mogelijkheden.

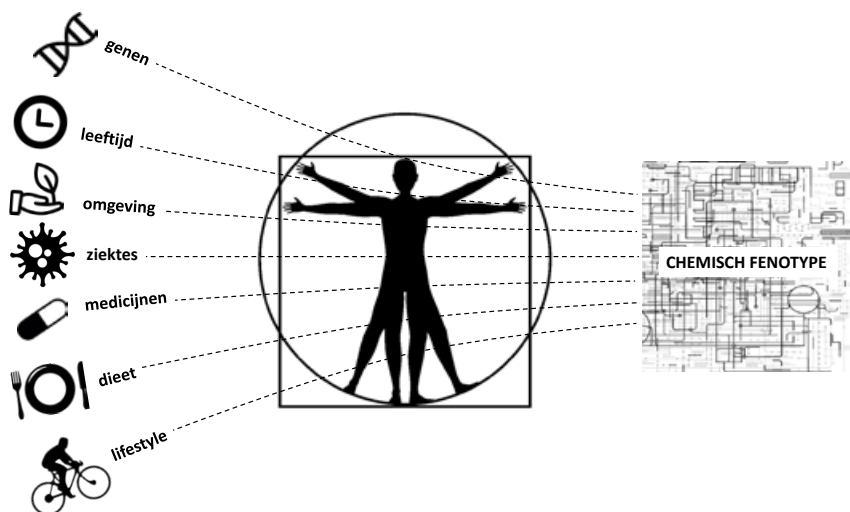
Figuur 4 toont de generieke workflow van metabolomics. Maatschappelijke kwesties worden vertaald in een specifieke biologische vraag. Ik zal verschillende voorbeelden verderop in mijn rede behandelen. Vervolgens wordt een experiment ontworpen waarmee deze vraag adequaat kan worden onderzocht. Er worden monsters genomen en deze worden voorbereid zodat ze daarna gemeten kunnen worden. De grote hoeveelheid data wordt voorbehandeld zodat die geanalyseerd kan worden. Uiteindelijk worden de uitkomsten van het onderzoek geïnterpreteerd en kan de onderzoeksvraag hopelijk worden beantwoord. Het is in ieder geval zeker dat er altijd nieuwe vragen ontstaan bij de wetenschappelijke zoektocht naar een antwoord

## METABOLOMICS WORKFLOW



Figuur 4 De metabolomics workflow

Een zeer belangrijk onderzoeksgebied dat zal profiteren van metabolomics is ‘*personalized medicine*’. Het is evident dat ieder individu uniek is, kijkt u maar om zich heen. Wij verschillen echter niet alleen aan de buitenkant, maar ook aan de binnenkant. Met metabolomics kunnen wij dit onderzoeken. Uw metabooloom is het resultaat van uw DNA, uw eigenschappen, zoals leeftijd en geslacht, en uw levenswandel, zoals levensstijl en dieet (Figuur 5). Om deze redenen wordt het metabooloom ook wel het chemische fenotype genoemd, zeg maar hoe wij er vanbinnen chemisch ‘uitzien’. Dit bevat een schat aan informatie waarin antwoorden liggen op fundamentele vragen, zoals ‘Zal dit geneesmiddel aanslaan bij deze patiënt?’, ‘Wat is de optimale dosis voor deze patiënt?’ en ‘Wat is het meest waarschijnlijke ziekteverloop bij deze patiënt?’.



*Figuur 5 In het metaboolom, ofwel chemisch fenotype, komen onder andere genen, leeftijd, omgeving, ziektes, medicijnen, dieet en lifestyle tot uitdrukking.*

Andere onderzoeksgebieden die aangejaagd worden door metabolomics zijn de forensische wetenschap, ecologie, milieuwetenschap en voedingswetenschap. Hierop kom ik later in deze rede terug.

## 4. Analytische chemie: drijvende kracht achter metabolomics

De cruciale vraag is: hoe kunnen we het metaboloom meten?

De uitdagingen zijn enorm. De laatste update van de Human Metabolome Database bevat maar liefst meer dan 114 000 verschillende metabolieten [6]. Dit zijn allemaal kleine moleculen, maar hun diversiteit is enorm. Sommige hiervan komen in zeer hoge concentraties voor, andere in zeer lage. Stelt u zich eens voor dat u een klontje suiker in een zout zwembad gooit; sommige metabolieten in ons lichaam zijn net zo verdund als de suiker in het zwembad! Anderen komen juist voor in de concentratie van het zout. Stelt u zich eens voor dat het een buitenzwembad is dat al jaren niet is schoongemaakt, waardoor er afval in opgehoopt is en er zich allerlei levensvormen in hebben gevestigd. Ergens in deze soep zitten de moleculen van het suikerklontje verstopt...

Nu komt analytische chemie in beeld.

De analytische scheikunde of analytische chemie is het onderdeel van de scheikunde dat zich bezighoudt met de analyse van chemische verbindingen in mengsels [7]. Daarbij wordt ingegaan op welke stoffen er aanwezig zijn en de concentratie van die stoffen. Door de jaren heen zijn analytisch-chemische technieken steeds beter geworden. Het onderscheidend vermogen is zo groot geworden dat vele duizenden stoffen in één monster kunnen worden gemeten. Moderne analytische apparatuur is dermate gevoelig dat we minder dan één nanogram per liter kunnen meten. Een nanogram is één miljardste gram. Daarnaast zijn analytische technieken veel sneller geworden; in de nabije toekomst kunnen we vrijwel real-time meten.

De gevolgen van deze ontwikkelingen zijn niet voorbijgegaan aan de hielprik. Ik heb u verteld over de oorzaak van fenylketonurie en dat we in het bloed van een pasgeborene kunnen meten of het gezond is of niet. De Amerikaanse wetenschapper Robert Guthrie heeft in 1962 een test ontwikkeld waarmee fenylketonurie gediagnostiseerd kon worden [8]. Bij deze test werd een bloedmonster in contact gebracht met speciaal gekweekte bacteriën. Zodra deze bacteriën in aanraking komen met bloed van een fenylketonuriepatiënt gaan ze groeien en binnen een etmaal kan dit worden vastgesteld worden onder een microscoop.

Fenylketonurie is echter niet de enige aangeboren stofwisselingsziekte. Er zijn er tientallen, met ieder hun eigen unieke oorzaak en bijbehorende metabolieten. De bacteriën van Robert Guthrie reageren alleen op fenylalanine en zijn dus ongeschikt voor het vaststellen van andere stofwisselingsziekten waar andere kleine moleculen bij betrokken zijn. Met moderne analytisch-chemische technieken kan het kleine beetje bloed van de hielprik tegenwoordig onderzocht worden op maar liefst 19 verschillende stofwisselingsziekten, waaronder fenylketonurie [9]. Ik verwacht dat het niet bij deze 19 ziekten zal blijven.



Dankzij ontwikkelingen in de analytische chemie, waardoor chemische analyse steeds sneller, nauwkeuriger en gevoeliger wordt kunnen wij nu meetsystemen ontwikkelen die duizenden metabolieten in één monster kunnen meten. Analytische chemie is dus de drijvende kracht achter metabolomics. Ontwikkelingen in met name massaspectrometrie en scheidingstechnieken zijn hierin cruciaal geweest. Ik zal dit toelichten.

Metabolieten zijn kleine moleculen. Moleculen bestaan uit atomen. Ieder atoom heeft een uniek gewicht en daarmee hebben ook vrijwel alle moleculen, dus ook metabolieten, een uniek gewicht. De afgelopen decennia zijn er steeds betere apparaten gekomen die ons in staat stellen de exacte massa van metabolieten te bepalen: massaspectrometers. Een massaspectrometer kan zeer kleine verschillen in gewicht tussen moleculen bepalen. Omgerekend kan een massaspectrometer het verschil meten tussen een auto met een verkeersboete onder de ruitenwisher en een auto zonder, oftewel één gram op duizend kilo. Dankzij dit vermogen van massaspectrometrie kunnen we metabolieten identificeren, we weten dan wat voor molecuul een bepaald metaboliet is. Dit noemen we kwalitatieve analyse.

Wanneer veel metabolieten tegelijk in een massaspectrometer worden gebracht, verstoren zij elkaars signaal en worden de resultaten onbetrouwbaar. Dankzij moderne scheidingstechnieken, zoals ultra-performance vloeistofchromatografie, capillaire gaschromatografie en capillaire elektroforese, zijn we in staat metabolieten uit een monster één voor één in de massaspectrometer binnen te laten. Dit stelt ons in staat te bepalen in welke concentratie metabolieten voorkomen. Dit noemen we kwantitatieve analyse.

## 5. Het lectoraat Metabolomics:

### • verbinding tussen de analytische chemie • van de hogeschool en die • van de universiteit

Bij het Leiden Academic Center for Drug Research (LACDR) van de Universiteit Leiden ontwikkel ik al sinds 2006, in de vakgroep Analytical BioSciences & Metabolomics van professor Thomas Hankemeier, analytisch-chemische methoden om de slagkracht van metabolomics te vergroten.

In 2016 heeft Hogeschool Leiden het lectoraat Metabolomics opgericht.

Onderwijsmanager Chemie Marja Krosenbrink-Gruijters is hierin een belangrijke aanjager geweest. Zij zag het belang van metabolomics en de rol van moderne analytische chemie en daarmee de relevantie van metabolomics voor de opleiding Chemie.

Voor mij was het een gouden kans om, samen met studenten en docenten van Hogeschool Leiden, een lectoraat gestalte te geven en succesvol te maken, zodat het onderdeel wordt van een netwerk dat metabolomics zowel op wetenschappelijk als op educatief vlak naar een hoger plan tilt.

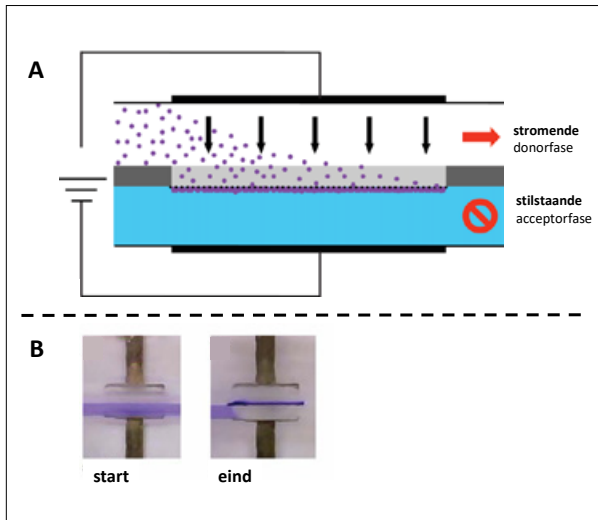
Op 7 september 2016 ben ik dan ook voor dag en dauw opgestaan in een vakantiehuisje op Schiermonnikoog, waar ik met mijn gezin verbleef. Een boottrip, autorit, omkleedbeurt en fietstocht verder stond ik 7 uur later in zaal G3.073 een voordracht te geven in het kader van mijn sollicitatie voor de positie van lector Metabolomics. En nu sta ik voor u mijn lectorale rede uit te spreken. Een fantastisch gevoel. Als lector bevind ik me op het snijvlak tussen onderwijs, wetenschap en de praktijk. Ik werk samen met docenten, promovendi, studenten, bedrijven, universiteiten, andere hogescholen. Ik waan mij een kind in de snoepwinkel.

Voordat het lectoraat werd opgericht was er slechts weinig verbinding tussen de analytische chemie van de hogeschool en die van de universiteit, terwijl we op een steenworp afstand van elkaar zitten. Die verbinding is er nu wel.

De missie van het lectoraat Metabolomics is het ontwikkelen en gebruiken van nieuwe analytische methoden om complexe vragen met gedetailleerde chemische informatie te beantwoorden.

## 6. Metabolomics onderzoek bij het Leiden Academic Centre for Drug Research

Om de missie van het lectoraat te realiseren is de samenwerking met de vakgroep Analytical BioSciences & Metabolomics van de universiteit van groot belang. In deze vakgroep ben ik wetenschappelijk gezien geworteld. Werken bij het LACDR biedt mij een zeer inspirerende omgeving, vol met cutting edge technology en ambitieuze intelligente mensen uit alle hoeken van de wereld. De ambitie van de vakgroep Analytical BioSciences and Metabolomics is het ontwikkelen van innovatieve analytische strategieën voor metabolomics-gedreven gezondheidsmonitoring en systeembiologiestudies. Dit is maatschappelijk zeer relevant en ik prijs mijzelf gelukkig dat ik hieraan al meer dan 12 jaar mijn steentje kan bijdragen en dat ik dat nu als lector Metabolomics kan blijven doen. In de afgelopen 12 jaar is veel aandacht uitgegaan naar het gebruik van elektrische velden om metabolieten zodanig te manipuleren dat ze goed gemeten kunnen worden. Een groot deel van de metabolieten is geladen en zullen daardoor bewegen als ze worden blootgesteld aan een elektrisch veld. Dit fenomeen heet elektromigratie en het biedt allerlei interessante mogelijkheden. Zo kunnen we metabolieten in een dun glazen buisje scheiden, waardoor ze één voor één bij de detector worden aangeleverd en goed gemeten kunnen worden. Dit is capillaire elektroforese. Door elektromigratie van metabolieten te laten plaatsvinden in verschillende, niet-mengbare vloeistoffen kunnen we ze razendsnel concentreren, waardoor het mogelijk wordt ze in zeer lage concentraties te meten. Dit is elektroextractie. De potentie van elektroextractie werd het eerst onderkend door mijn copromotor Ubbo Tjaden, in de jaren 90 [10]. Mijn promotieonderzoek richtte zich erop om elektroextractie-methoden te ontwikkelen voor metabolomics [11-14]. Met behulp van elektroextractie kunnen we metabolieten in zeer kleine monsters meten, ook al komen ze voor in een lage concentratie. Daarnaast is elektroextractie een snelle techniek en dus toepasbaar in studies waarin veel monsters gemeten moeten worden. Dit is de basis voor een belangrijk deel van mijn onderzoek bij LACDR/UL. Door de jaren heen hebben we verschillende innovatieve opstellingen gebouwd, zoals geautomatiseerde elektroextractie [15] en elektroextractie in een chip [16]. Figuur 6A toont het principe van elektroextractie in een chip. Het proces dat geladen metabolieten ondergaan in deze chip is zichtbaar gemaakt met een paarse kleurstof, kristalviolet (Figuur 6B). Een vloeistof die kristalviolet bevat stroomt door een dun kanaaltje in een chip. Zodra deze vloeistof door het elektrisch veld komt migreren de kristalvioletoleculen razendsnel naar een andere vloeistof, die stilstaat. Hierdoor hoopt kristalviolet zich daar op. De implicatie is dat dit



*Figuur 6 A) het werkingsprincipe van elektroextractie op een chip  
B) elektroextractie van de kleurstof kristalviolet. Uit [16]*

proces gebruikt kan worden om metabolieten te concentreren, waardoor ze makkelijker gemeten kunnen worden.

Op dit moment ben ik copromotor van vijf promovendi van de vakgroep Analytical BioSciences and Metabolomics.

Zo begeleid ik promovendus Yupeng He met het ontwikkelen van een metabolomics-methode die gebruikt kan worden om spierveroudering beter te begrijpen. We bouwen hiervoor een apparaat dat zeer gevoelig metabolieten in zeer kleine spiermonsters kan meten. Het apparaat concentreert metabolieten met behulp van elektroextractie, scheidt ze met behulp van capillaire elektroforese en detecteert ze met massaspectrometrie. Promovendus Amar Oedit heeft hiervoor cruciaal voorwerk verricht.

Promovendus Zhengzheng Zhang ontwikkelt geavanceerde technologie om vetten die in ons lichaam voorkomen te kunnen meten. U denkt bij vet misschien aan vet eten, vet haar of obesitas. Vet is echter niet zomaar vet. Er zijn duizenden verschillende soorten vetmoleculen [17]. Bij alle belangrijke processen in ons lichaam zijn vetten betrokken [18].

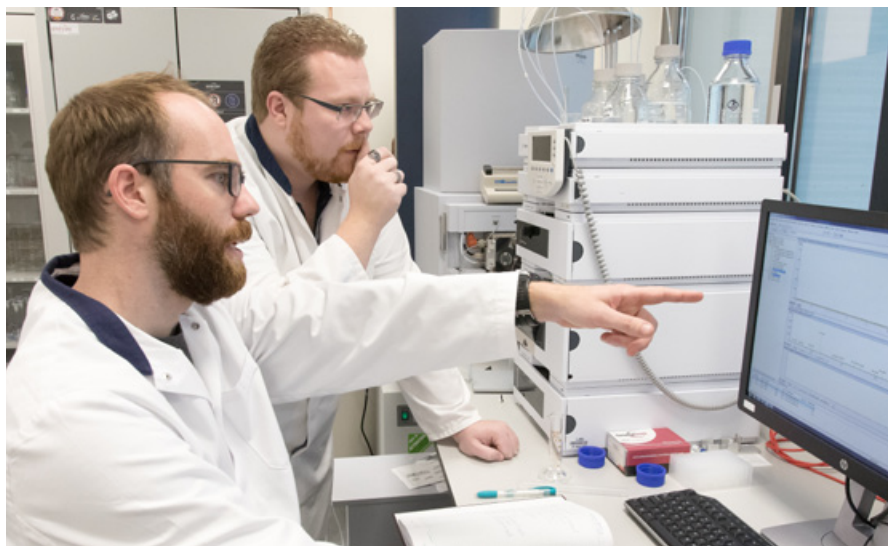
Verstoringen in vetmetabolisme kunnen leiden tot ziektes. Er zijn aanwijzingen dat verstoringen in het transport van vetmoleculen betrokken zijn bij het ontstaan van (vormen van) de ziekte van Alzheimer. Om dit te kunnen onderzoeken is nieuwe analytisch-chemische technologie nodig die het transport van vetten door ons lichaam in detail in beeld brengt. Dit is wat Zhengzheng, samen met postdoc Yulia Shakalisava, ontwikkelt. Promovendus Simon Leygeber ontwikkelt, onder andere in samenwerking met DSM, metabolomics-methoden om de chemie van smaak te ontrafelen. Door metabolomics-data te combineren met data van smaakpanels ontwikkelen we een pijplijn om smaakstoffen te ontdekken.

Promovendus Farideh Hosseinkhani ontwikkelt methoden om metabolisme van de darmflora betrouwbaar te kunnen bestuderen. Ons maagdarmsstelsel wordt bewoond door één à twee kilo micro-organismen, dit zijn er naar schatting honderdduizendmiljoen (dat is een één met 11 nullen; 100 000 000 000) [19]. Dit zijn meer bacteriën dan u lichaamseigen cellen heeft! Er zijn enkele duizenden verschillende soorten micro-organismen bekend uit het maagdarmsstelsel van de mens, waarvan de meeste bacteriën zijn. Dit is de darmflora, ook wel microbioom genoemd. Ze spelen een zeer belangrijke rol bij het verteren van ons voedsel. Door al deze bacteriën wordt op grote schaal een grote verscheidenheid aan metabolieten gevormd. De afgelopen jaren is duidelijk geworden dat de samenstelling van het microbioom in verband staat met uiteenlopende ziektes van de gastheer, ons dus. Voorbeelden hiervan zijn obesitas, immuunziektes en zelfs ziektes in het centrale zenuwstelsel zoals de ziekte van Alzheimer [20]. Met behulp van metabolomics kan de activiteit van het microbioom in detail worden onderzocht en kunnen verbanden worden gelegd met het ontstaan van dit soort ziektes. Later meer over de darmflora.

## 7. Metabolomics bij het Leiden Centre for Applied Bioscience

Het lectoraat Metabolomics bestaat inmiddels tweeënhal jaar. De belangrijkste onderzoeksthema's waarop het lectoraat zich richt zijn de forensische wetenschap, biodiversiteit en personalized medicine.

Sinds september 2017 maakt het lectoraat deel uit van het Leiden Centre for Applied Bioscience, het onderzoekscentrum van de faculteit Science & Technology. Binnen dit onderzoekscentrum doen vier lectoraten en een vakgroep onderzoek. Hierbij worden geavanceerde meet- en detectietechnieken ingezet om monsters te analyseren afkomstig uit verschillende omgevingen: lucht, water, bodem, mens, dier, plant en voedsel. De afgelopen anderhalf jaar is het LCAB uitgegroeid tot een hecht team dat gezamenlijk werkt aan vraagstukken op het gebied van biodiversiteit en gezondheid. De kantoorruimte, waar we met zijn allen zitten, van student tot lector, zorgt voor een laagdrempelige, sociale, gezellige, efficiënte, en, ja, rumoerige werkplek. Hier vindt hogeschoolonderzoek plaats zoals hogeschoolonderzoek bedoeld is: praktijkgericht, rondom vragen uit het MKB, op het snijvlak van onderwijs en onderzoek, uitgevoerd door docenten en studenten, ondersteund door analisten (Figuur 7).



*Figuur 7 Chemie-docent Maarten van der Horst en analist Richard van Rijn bij een LC-MS*

Het lab van het lectoraat is in korte tijd zeer goed geoutilleerd geraakt. Manager Applied Science Danny Dukers heeft hierbij een cruciale rol gespeeld. We beschikken nu over twee vloeistofchromatografen gekoppeld aan massaspectrometrie, een gaschromatograaf gekoppeld aan olfactory detection én massaspectrometrie en een capillaire elektroforese apparaat gekoppeld aan fluorescentiedetectie. U hoeft dit niet allemaal te onthouden. Het komt erop neer dat we onze missie kunnen uitvoeren: het ontwikkelen en gebruiken van nieuwe analytische methoden om complexe vragen met gedetailleerde chemische informatie te beantwoorden.

## 8. Metabolomics van het microbioom

Een voorbeeld van een dergelijke complexe vraag is: wat is de invloed van de darmflora op de prestatie van duursporters? Ik heb u zojuist verteld over de micro-organismen in onze darmflora: het is een complex ecosysteem daarbinnen! Zo'n 40% van de duursporters heeft last van maagdarmlachten tijdens of in de uren na het sporten. De wielersfans onder u zullen zich vast nog Tom Dumoulin herinneren, die op 23 mei 2017 in de koninginnenrit van de Giro d'Italia plots van zijn fiets sprong om zijn behoefte te doen in de berm. Zijn eindzege in de Giro leek in gevaar te komen maar gelukkig kwam het allemaal goed. Het voornaamste doel van het onderzoeksproject 'With help of my little friends?', dat is opgezet door HL-wetenschapper Dionne Noordhof, is te onderzoeken of er een relatie bestaat tussen de samenstelling en activiteit van de darmflora en het ontstaan van maagdarmlachten tijdens duurinspanning. Door het analyseren van DNA in feces kunnen we achterhalen welke micro-organismen erin aanwezig zijn. Iedere soort micro-organisme heeft namelijk uniek DNA. Door het analyseren van bepaalde metabolieten (aminozuren en afgeleiden) in de feces van sporters kunnen we een beeld krijgen van de metabole activiteit van het microbioom tijdens sportinspanning. We zijn daarbij zeer benieuwd of het microbioom van hardlopers die wel last krijgen van maagdarmlachten verschilt van dat van klachtenvrije hardlopers en of door middel van voeding het microbioom zodanig kan worden beïnvloed dat de maagdarmlachten van de sporters verminderen.

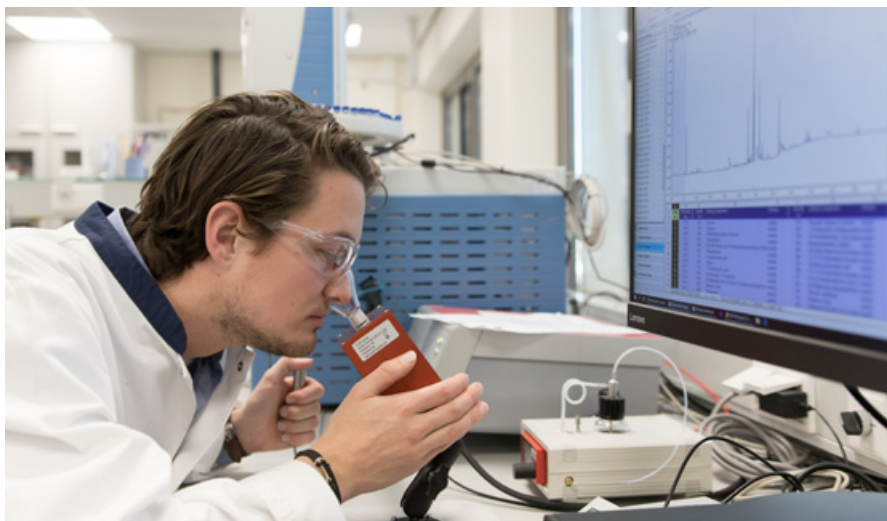


## 9. Metabolomics van voeding

Metabolomics is zeer geschikt om voeding en bereidingswijzen van voedsel mee te bestuderen.

Chemie-docent Karsten Kaspers heeft samen met HL-studenten Sarah Rothman en Frans Zweipfenning een methode ontwikkeld om het gehalte van mineralen in cherry-trostomaten te bepalen. Het blijkt dat tomaatjes op verschillende posities aan de tros van elkaar verschillen. Dit soort informatie is van belang voor tomatenkwekers. Een volgende stap is om met metabolomics te onderzoeken welke biochemische processen hieraan ten grondslag liggen. Hierin werkt mijn lectoraat nauw samen met het pas opgerichte Foodlab van de hogeschool, waar de geschiedenis, natuurkunde en chemie van het koken worden onderzocht.

De smaakbeleving van voedsel wordt in hoge mate bepaald door ons reukvermogen. Gaschromatografie is een scheidingstechniek die bij uitstek geschikt is om geurstoffen te scheiden. De massaspectrometer kan de geurstoffen identificeren. Echter, een massaspectrometer kan niet ruiken en daarom gebruiken we een olfactory detector, oftewel een menselijke neus (Figuur 8). Nadat de geurstoffen gescheiden zijn kunnen ze één voor één geroken worden en vervolgens geïdentificeerd door de massaspectrometer. De eerste resultaten, behaald door analisten Richard van Rijn en Sietse Kuipers samen met UL-student Martin Brussee, zijn veelbelovend. We zijn in staat vele bestanddelen van allerlei soorten kruiden te meten.



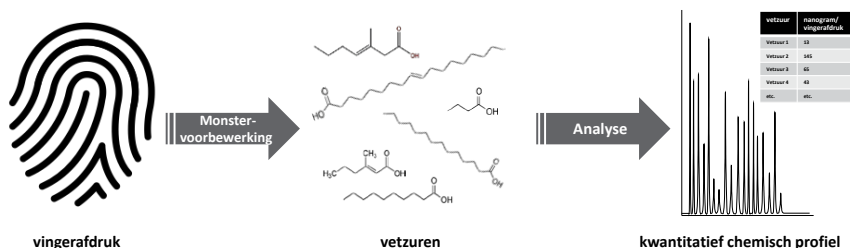
*Figuur 8 Student Martin Brussee als olfactory detector aan het werk bij een GC-MS.*

# 10. Metabolomics van de vingerafdruk

Er zijn nogal wat situaties waarin slechts zeer kleine monsters beschikbaar zijn en er toch zoveel mogelijk gedetailleerde chemische informatie nodig is. Een sprekend voorbeeld is de vingerafdruk.

Vingerafdrukken zijn iconisch voor forensisch onderzoek. De lijnenpatronen in een vingerafdruk zijn uniek voor een persoon. Er worden echter maar zelden perfecte vingerafdrukken, die leiden tot een perfecte match, aangetroffen. In een vingerafdruk bevindt zich een scala aan kleine moleculen die informatie kunnen verschaffen over degene die hem heeft achtergelaten. Het is aannemelijk dat ieder individu een uniek chemisch profiel in zijn vingerafdrukken heeft [21]. Van een bepaald soort metabolieten, de vetzuren, is al bekend dat ze zich bevinden in vingerafdrukken, maar het is nog niet bekend in welke exacte samenstelling. Deze informatie kan cruciaal zijn bij het oplossen van misdaden. Het verkrijgen van zoveel mogelijk metabole informatie uit een vingerafdruk is een grote uitdaging, die een innovatieve analytisch-chemische benadering vereist. Figuur 9 toont de globale opzet van het onderzoek.

Chemiestudent Chivany Soemai ontwikkelt, begeleid door chemiedocenten Anton Heemskerk en André van Roon, een innovatieve methode die 1) het werken met zeer kleine monsters faciliteert en 2) de te meten stoffen concentreert zodat ze goed gemeten kunnen worden.

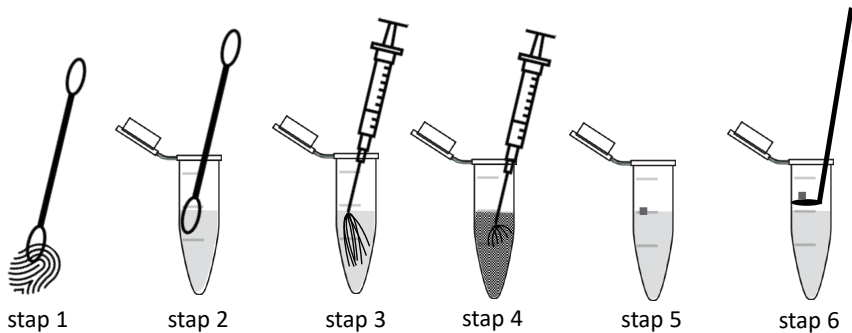


Figuur 9 Schematische weergave van het onderzoek 'Vingerafdruk 2.0'

De methode berust op drie chemische fenomenen:

- 1) sommige vloeistoffen vormen emulsies als ze worden gemengd,
- 2) vloeistoffen hebben verschillende vriespunten,
- 3) de vetzuren lossen veel beter op in de ene vloeistof dan de andere.

De methode werkt als volgt. Eerst verzamelen we met een wattenstaafje de vingerafdruk. Vervolgens lossen we de vetzuren op in een vloeistof, bijvoorbeeld aceton, en voegen water toe. Hierdoor raken ze sterk verdund, wat de meting zal bemoeilijken. We voegen echter een klein druppeltje toe van de vloeistof, undecanol, die twee speciale eigenschappen heeft: vetzuren lossen er heel goed in op en hij bevriest al bij 19 °C. De combinatie van aceton, water en undecanol veroorzaakt een bijzonder effect: er wordt een emulsie gevormd. Twee normaal gesproken niet-mengbare vloeistoffen vormen toch een stabiel mengsel dankzij de aanwezigheid van een derde vloeistof. Een heel bekende emulsie is mayonaise, waarin olie en azijn mengen dankzij eigeel. In een emulsie kunnen moleculen heel makkelijk 'overspringen' van de ene vloeistof naar de andere. In dit geval komen de vetzuren in de undecanol terecht. Daarna wordt de emulsie gekoeld en bevriest de undecanol. Er ontstaat nu een makkelijk te verzamelen 'ijsklontje' waarin de vetzuren geconcentreerd zijn. Figuur 10 toont deze procedure. Het ijsklontje wordt vervolgens geanalyseerd. Deze techniek wordt *'dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of the floating organic phase'* genoemd, afgekort DLLME-SFO.



*Figuur 10 Schematische weergave van DLLME-SFO van vetzuren in een vingerafdruk.*

*Stap 1: verzamelen van vingerafdruk met wattenstaafje.*

*Stap 2: oplossen van monster in aceton.*

*Stap 3: toevoegen van water.*

*Stap 4: toevoegen van undecanol.*

*Stap 5: bevriezen van undecanol.*

*Stap 6: verzamelen van undecanol-ijsklontje, inclusief vetzuren.*

Bij het lectoraat is een KIEM-HBO-project, ‘Vingerafdruk 2.0: het meten van chemische patronen in vingerafdrukken’, opgestart om de potentie van deze benadering voor de chemische analyse van vingerafdrukken te onderzoeken. Dit doen we in samenwerking met het Nederlands Forensisch Instituut, Universiteit Leiden (het LACDR) en het bedrijf Interscience BV. Het project wordt gefinancierd door Regieorgaan Praktijkgericht Onderzoek SIA.

# 11. Metabolomics van livers-on-a-chip

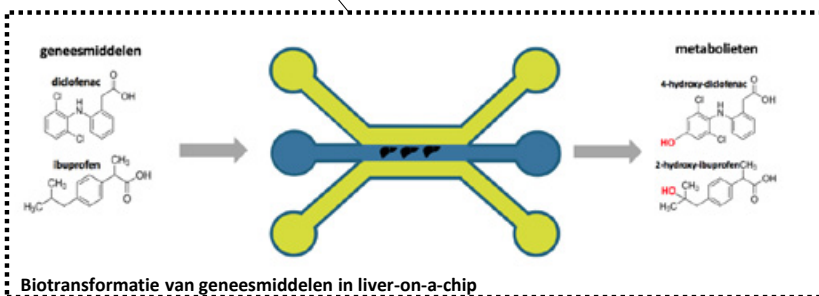
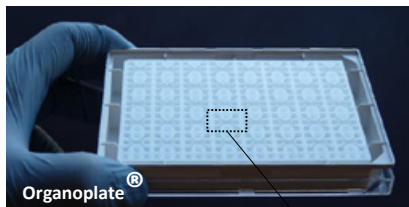
Een soortgelijke procedure passen we ook toe bij het bepalen van geneesmiddelen en hun metabolieten in kleine monsters afkomstig van organs-on-a-chip. Dit zijn micro-orgaantjes die in microfluïdische kanaaltjes groeien [22]. De micro-orgaantjes zijn erg geschikt om geneesmiddelen op te testen. In de nabije toekomst kunnen cellen uit uw eigen bloed tot micro-orgaan naar keuze worden opgekweekt en onderworpen aan tests en analyses. Dit biedt enorme mogelijkheden voor het in de praktijk brengen van personalized medicine. In 2016 stond deze technologie in de top 10 van doorbraaktechnologieën van het gezaghebbende World Economic Forum [23].

Het bedrijf MIMETAS ontwikkelt organs-on-chips, resulterend in de OrganoPlate®, waarin orgaantjes kunnen worden blootgesteld aan geneesmiddelen. De OrganoPlate® bevat tot wel 96 micro-orgaantjes en is zeer geschikt om snel veel medicijnen te testen. Eén van de micro-orgaantjes die hierin wordt gekweekt is de lever: de liver-on-a-chip.

Vele geneesmiddelen worden in de lever omgezet in metabolieten. Voor zowel de veiligheid als de werkzaamheid van een potentieel nieuw medicijn is het belangrijk om te weten hoe snel het wordt afgebroken in de lever en welke metabolieten daarbij ontstaan. Er is op dit moment geen betrouwbare methode voorhanden om biotransformatie van geneesmiddelen in livers-on-a-chip te bestuderen. Chemiedocenten Natasja Carol-Visser en Maarten van der Horst ontwikkelen een analytisch-chemische methode die dit wél mogelijk maakt.

Hierbij richten wij ons in eerste instantie op de veel voorgeschreven pijnstillers diclofenac en ibuprofen. Een functionele liver-on-a-chip zal in staat zijn om diclofenac en ibuprofen om te zetten in hun metabolieten. In Figuur 11 is schematisch weergegeven hoe dit in zijn werk gaat. In een OrganoPlate® bevinden zich zeer kleine kanaaltjes, waarin, in het middelste kanaal, levertjes groeien. Aan weerszijden van elk weefselkje wordt een vloeistof met voedingsstoffen geleid. Dit creëert een zeer natuurgetrouwe micro-omgeving [24].

Via de kanalen worden medicijnen toegevoegd. De levertjes zetten deze medicijnen om in metabolieten en scheiden die uit in de vloeistof, die verzameld wordt voor analyse. Deze monsters zijn slechts 30 microliter groot en bevatten lage concentraties metabolieten.



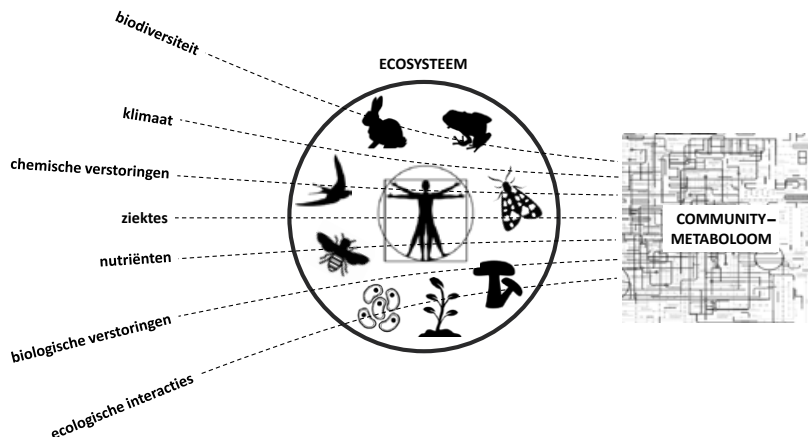
*Figuur 11 Een Organoplate® en een schematische weergave van biotransformatie van diclofenac en ibuprofen in een liver-on-a-chip.*

Het bij het lectoraat lopende KIEM-HBO-project, 'Ontwikkeling van meetmethoden om biotransformatie van geneesmiddelen in livers-on-chips te bepalen' is een samenwerking met de bedrijven MIMETAS en Bruker Daltonics en Universiteit Leiden. Het wordt gefinancierd door het Regiorgaan Praktijkgericht Onderzoek SIA.

## 12. Environmental metabolomics

Tot nu toe is metabolomics met name ingezet ten behoeve van de mens. Het is mijn ambitie om het grote potentieel van metabolomics voor het onderzoeken van complexe systemen ook aan te wenden in de ecologische en milieuwetenschappen en het toe te passen op biodiversiteitsvraagstukken. Ik wil metabolomics inzetten om interacties tussen organismen onderling en met hun omgeving te onderzoeken, met behulp van environmental metabolomics, oftewel eMetabolomics.

Uiteindelijk zal ook de mens hiervan profiteren. Ons welzijn wordt niet alleen bepaald door de processen die zich in ons lichaam afspelen, maar ook door processen erbuiten, via de lucht die we inademen, het water dat we drinken en het voedsel dat we eten. Onze gezondheid wordt sterk beïnvloed door ons leefmilieu. Daarnaast wordt ons leefmilieu sterk beïnvloed door onze aanwezigheid. Beide aspecten kunnen in detail worden bestudeerd door te meten aan het community-metaboloom. Dit is de verzameling van metabolieten die door alle organismen in een ecosysteem worden uitgescheiden aan hun omgeving. Hierin reflecteert de invloed van uiteenlopende factoren zoals klimaat, vervuiling en invasieve exoten op het ecosysteem waarin wij leven (Figuur 12). Om het community-metaboloom te meten moeten innovatieve on-site monsternametechnieken worden ontwikkeld en metabolomics-methoden voor nieuwe soorten monsters, zoals bijvoorbeeld oppervlaktewater en lucht, maar ook monsters afkomstig van allerlei organismen.



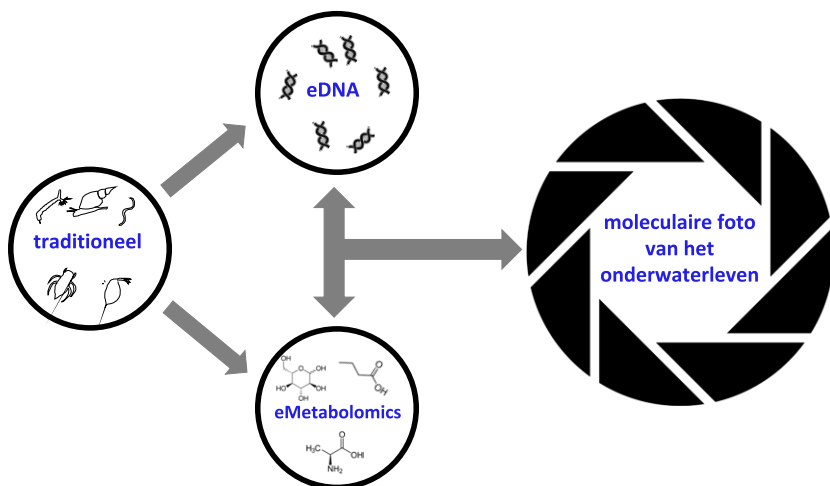
*Figuur 12 In het community-metabooloom komen onder andere biodiversiteit, klimaat, chemische verstoringen, ziektes, nutriënten, biologische verstoringen en ecologische interacties tot uitdrukking.*

Ik geloof dat ik met dit onderzoek kan bijdragen aan een gezonde leefomgeving, waarin gezonde mensen kunnen coëxisteren met een gezonde natuur met hoge biodiversiteit. Het lectoraat Metabolomics kan hierin de schakel vormen tussen wetenschappers (analytisch chemici, milieuwetenschappers, ecologen) en de beroepspraktijk (overheden, ecologische adviesbureaus, waterschappen, etc.). Ik zal u een voorbeeld geven van een project waarin wij bij Hogeschool Leiden metabolomics op een dergelijke wijze toepassen.

Ik heb u al eerder verteld dat iedere cel, ieder weefsel, ieder orgaan, ieder organisme en iedere community een metabooloom bevat. Welnu, ook water van een aquatisch ecosysteem, zoals een slootje, heeft zijn eigen metabooloom. In een aquatisch ecosysteem bevindt zich een grote verscheidenheid aan organismen, die metabolieten afscheiden aan het water [25]. Met eMetabolomics kunnen we het metabooloom van het aquatisch ecosysteem bestuderen en inzicht verkrijgen in de staat ervan, evenals de gevolgen van verstoringen [26]. Er bevindt zich ook DNA in het aquatisch ecosysteem: environmental DNA of eDNA. Iedere soort genereert unieke eDNA-sporen. Door eDNA in oppervlaktewater te analyseren kunnen we achterhalen welke soorten er allemaal in voorkomen. Een moleculaire foto combineert informatie van eDNA en eMetabolomics analyse (Figuur 13).

eDNA kan ons vertellen welke soorten er voorkomen in een aquatisch ecosysteem.





*Figuur 13 Een moleculaire foto combineert informatie uit analyses van DNA (eDNA) en stofwisselingsproducten (eMetabolomics) in het water en kan daardoor fungeren als early warning system.*

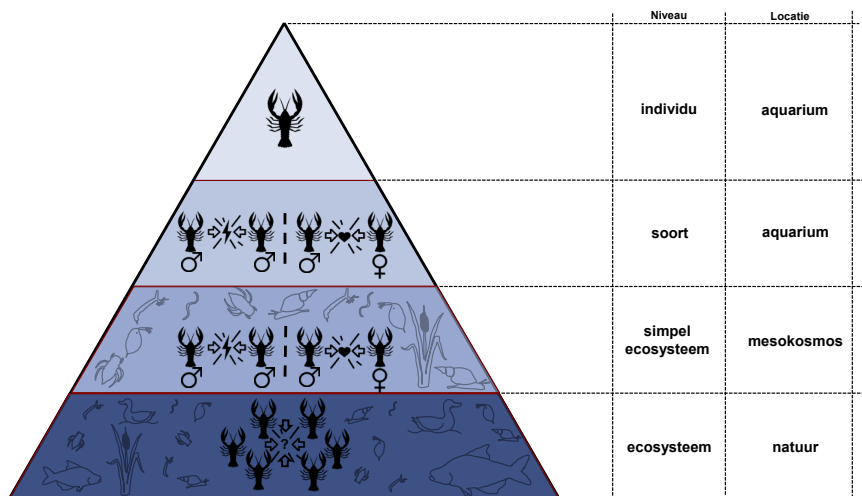
eMetabolomics kan ons vertellen welke processen er gaande zijn. Bij wijze van spreken, met behulp van eDNA kan de aanwezigheid van watervlooien worden aangetoond en met eMetabolomics kan worden aangetoond dat deze watervlooien zich voortplanten.

Deze benadering passen we toe in een tweetal casestudies waarin de effecten van biologische en chemische verstoringen op het ecosysteem wordt onderzocht. In beide studies nemen we watermonsters waarvan we het metaboloom meten. Chemiedocent André van Roon en studenten Chivany Soemai en Faysal Sbaa ontwikkelen daartoe de eMetabolomics-methoden.

Voor de biologische verstoring richten we ons op de rode Amerikaanse rivierkreeft (*Procambarus clarkii*). Dit is een invasieve exoot die inmiddels op veel locaties zeer talrijk voorkomt, met name in het westen van ons land. U heeft er misschien weleens een gezien. Ook in de grachten van Leiden wemelt het ervan.

Het is al geruime tijd bekend dat rivierkreeften met elkaar kunnen communiceren met behulp van chemische signalen, oftewel feromonen [27]. De feromonen worden onder andere afgescheiden tijdens territoriumgevechten en seks. Wij geloven dat we een analytisch-chemische methode kunnen ontwikkelen die het voorkomen én gedrag van Amerikaanse rode rivierkreeften kan meten.

Figuur 14 toont de opzet van het onderzoek. Allereerst gaan we rivierkreeften in aquaria bestuderen door watermonsters te nemen en die te analyseren. Vervolgens onderzoeken we chemische communicatie tussen rivierkreeften in aquaria en mesokosmosen; dit zijn kleine vijvers die een simpel aquatisch ecosysteem bevatten. Uiteindelijk passen we de ontwikkelde eMetabolomics-methodiek toe op oppervlaktewater uit de natuur. Hierbij zullen wij ons richten op ‘biogene amines’. Dit is een diverse groep verbindingen van biologische herkomst die minimaal één amine-groep bezit. Het zijn organische basen met een laag molecuulgewicht die een belangrijke rol spelen in de stofwisseling van vele organismen. Van twee biogene amines is bekend dat ze een rol spelen bij chemische communicatie in crustaceën: serotonine en octopamine [28, 29].



*Figuur 14 Studieontwerp voor het ontwikkelen van eMetabolomics-methoden die het voorkomen en de activiteit (bijvoorbeeld reproductie) van rivierkreeften kunnen monitoren.*

Als we feromonen van rivierkreeften ontdekken, zouden we deze kunnen gebruiken als lokstoffen, zoals dat bij insecten ook al vaak wordt gedaan. Dit zou door waterbeheerders kunnen worden gebruikt bij de ontwikkeling van speciale rivierkreeftvallen. Deze vallen kunnen bijvoorbeeld ook worden ingezet bij het indammen van plagen.

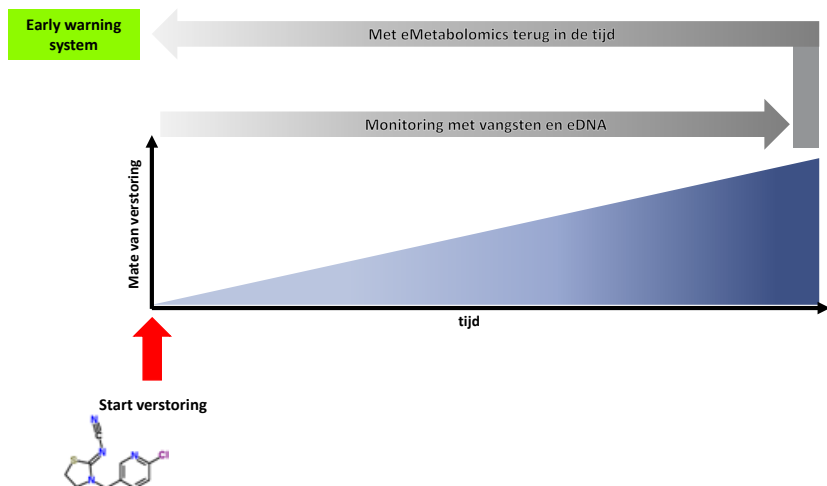
We gaan ook een chemische verstoring van het oppervlaktewater bestuderen met behulp van eMetabolomics: het bestrijdingsmiddel thiacloprid.

Regelmatig verschijnen er alarmerende berichten over het afnemen van de biodiversiteit op het platteland [30, 31]. Vaak wordt dit in verband gebracht met bestrijdingsmiddelen, in het bijzonder neonicotinoïden (in de volksmond ‘bijengif’), die een negatief effect hebben op de insectenstand [30] en de insectenetende vogels [31].

Deze in het oog springende veranderingen van het ecosysteem zijn het gevolg van allerlei processen die zich, meestal ongemerkt, gedurende lange tijd voltrekken in lagere niveaus van de voedselpiramide. Het ecosysteem is nu zodanig verstoord dat het terugbrengen ervan naar de gezonde staat een aanzienlijke inspanning en tijd zal kosten.

Er is dus behoefte aan een meetsysteem dat de vroegste verstoringen van het aquatisch ecosysteem, die dan nog beperkt zijn, kan detecteren. Figuur 15 toont de strategie waarmee we een op eMetabolomics gebaseerd early warning system willen ontwikkelen in het Levend Lab. Het Levend Lab is een testfaciliteit van het Centrum voor Milieukunde Leiden (CML) van Universiteit Leiden en bestaat uit een proefveld met 36 slootjes.

Een deel van deze slootjes zal worden verstoord door thiacloprid eraan toe te voegen. Vervolgens worden alle slootjes handmatig en met behulp van eDNA gemonitord. Hierbij wordt de complete leefgemeenschap, van micro-organismen tot gewervelde dieren, in kaart gebracht om inzicht te krijgen in de veranderingen die zich voltrekken. Ook worden de slootjes regelmatig bemonsterd ten behoeve van eMetabolomics-metingen. Aan het eind van het blootstellingsexperiment gaan we met eMetabolomics het effect van thiacloprid op het aquatisch ecosysteem terug in de tijd meten. Allereerst identificeren we metabolieten in monsters genomen aan het einde van het experiment: zwaar verstoorde slootjes. Vervolgens gaan we deze metabolieten bepalen in steeds oudere monsters, om te ontdekken hoe vroeg we het effect van thiacloprid kunnen opsporen. Ik verwacht dat het effect van thiacloprid al heel vroeg kan worden gemeten in het metabool van de slootjes [26, 32].



*Figuur 15 Studieontwerp voor het ontwikkelen van een early warning system voor verstoring van het aquatisch ecosysteem met behulp van eMetabolomics, eDNA en vangsten*

Het recentelijk opgestarte RAAK-Publiek project, *'eDNA en eMetabolomics: moleculaire foto's van het onderwaterleven'*, gefinancierd door Regiorgaan Praktijkgericht Onderzoek SIA, is een samenwerking met het Centrum voor Milieukunde Leiden (Universiteit Leiden), Naturalis, de vakgroep Animal Ecology (VU Amsterdam), de bedrijven Baseclear, Bruker Daltonics, Bureau Waardenburg, Witteveen+Bos, het wateronderzoeksinstituut KWR, Hoogheemraadschap van Rijnland, Holland Rijnland en het waterinstituut Wetsus.

Ik hoop u met bovenstaande voorbeelden ervan overtuigd te hebben dat metabolomics van grote waarde zal zijn voor de maatschappij in brede zin.

## 13. Metabolomics en onderwijs

Dit kan echter alleen echt goed lukken als we goed opgeleide studenten afleveren, die uit de voeten kunnen met de technologie. Een actieve leer- en werkomgeving is hiervoor noodzakelijk. Daartoe heeft het lectoraat, samen met docenten van de opleiding Chemie de Minor “Metabolomics” ontwikkeld, die op dit moment voor de tweede keer wordt gegeven en toegankelijk is voor studenten Chemie, Bioinformatica en Biologie & Medisch LaboratoriumOnderzoek. Deze minor is ons platform voor het vertalen van ons onderzoek naar onderwijs. De studenten worden door het docententeam van de opleiding Chemie onderwezen in systeemdenken, moderne analytische chemie en multivariate data-analyse. Hun minorstage voeren ze uit in een metabolomics lab hier in het BioScience Park. Na afronding van deze minor zijn studenten klaar om bij een metabolomics laboratorium te gaan werken, of om door te stromen naar de master Biopharmaceutical Sciences: Systems Pharmacology. We streven ernaar de studenten zo autonoom en onafhankelijk mogelijk te maken en wakkeren hun enthousiasme voor het vakgebied zoveel mogelijk aan, zodat zij in de toekomst een wezenlijke bijdrage kunnen leveren aan de ontwikkeling ervan.

Dankzij het lectoraat kunnen studenten makkelijker doorstromen van de hogeschool naar een stageplaats of master op de universiteit, of naar een baan als metabolomics-analist. Kennis van de laatste wetenschappelijke ontwikkelingen in moderne analytische chemie en metabolomics stromen van de universiteit naar de hogeschool en worden hier in het curriculum verwerkt. Er wordt al samengewerkt op wetenschappelijk gebied: docent Chemie Alphert Christina ontwikkelt samen met promovendus Cornelius Wallacey een chemische reactie om metaboliëten gevoeliger te kunnen meten. Dit alles draagt bij aan het ontwikkelen van nieuwe methoden, nieuwe expertise en het opleiden van enthousiaste competente studenten.

Het BioScience Park van Leiden is the place to be voor metabolomics en analytische chemie!

## 14. De schoonheid van complexiteit

De afgelopen 40 minuten heb ik u verteld over metabolomics. Ik heb u aan de hand van de hieprik verteld over het belang van analytische chemie, die in het geval van fenyketonurie levens kan redden. Ik heb u verteld over complexere, multifactoriële ziektes, die we pas kunnen begrijpen als we alle factoren die eraan ten grondslag liggen kunnen meten.

Als men goed kijkt naar problemen en hun oplossingen, dan valt iets op. Het probleem en haar oplossing zijn vaak van vergelijkbare complexiteit. Oftewel: simpele problemen hebben simpele oplossingen terwijl complexe problemen complexe oplossingen hebben. Zoomt men in op slechts één aspect van een complex probleem, dan mist men het grote geheel en kan men het systeem nooit begrijpen. Helaas komt dit maar al te vaak voor in de politiek; ik zou wensen dat politici als het ware wat vaker een hele wolk spreuwen bestuderen in plaats van alleen de slechtvalk. Er zit schoonheid in complexiteit. Het oplossen van een complex probleem vereist samenwerking, empathie en een open blik ten aanzien van verschillende zienswijzen. Ook dit draagt bij aan de schoonheid van complexiteit, al wordt dat helaas vaak ondergewaardeerd.

Dankzij moderne analytische chemie zijn we in staat in uiteenlopende vakgebieden met metabolomics bij te dragen aan de oplossing van complexe vraagstukken. Ik heb u enkele voorbeelden gegeven.

De chemie van een vingerafdruk.

De metabole activiteit van onze darmflora.

De omzetting van geneesmiddelen door een microlevertje.

Het metabooloom van het aquatisch ecosysteem.

Door het bestuderen van kleine moleculen creëren we grote mogelijkheden.

## 15. Dankwoord

Dames en heren, ik ben aan het eind gekomen van mijn lectorale rede. Ik had hier niet gestaan zonder deel uit te maken van een systeem. Dit systeem, waarin ik kan floreren, bestaat uit collega's, samenwerkingspartners, vrienden en familie.

Allereerst wil ik het College van Bestuur van Hogeschool Leiden bedanken dat het mij de gelegenheid heeft gegeven deze lectorale rede uit te spreken en de positie van lector aan deze mooie hogeschool te bekleden. Ik vind dit een heel grote eer. Faculteitsdirecteur Patrick Pijnenburg en opleidingsmanager Chemie Marja Krosenbrink-Gruijters dank ik voor het vertrouwen dat ze in mij hebben gehad toen ik solliciteerde, en daarna. Ik heb bij Hogeschool Leiden een warme collegiale werkomgeving gevonden, waar men oog heeft voor elkaar en zeer gedreven is. Danny Dukers, de manager Applied Science van het LCAB, is onmisbaar geweest bij het opzetten van het metabolomics lab; met de nu aanwezige apparatuur kunnen we uitdagend onderzoek doen, ook op het gebied van voeding! Vanaf dag één heb ik zeer nauw samengewerkt met André van Roon. Zo nauw, dat ik bijna zijn humor begin te missen tijdens het weekend. André is als assistant-lector cruciaal voor het lectoraat Metabolomics. Dankzij André is er een minor Metabolomics, hebben we goede stagestudenten en een geweldig eMetabolomics project. En, niet in de laatste plaats, met André kan ik zoveel praten over vogels als ik wil.

Willeke de Boer heeft deze dag mogelijk gemaakt. Dit is niet de eerste keer dat ze tot in het kleinste detail een evenement in de steigers heeft gezet. Daarnaast beheert ze mijn agenda en houdt ze chaos op afstand. Bedankt Willeke! En ook bedankt voor het zorgzame oog dat je houdt op alle medewerkers, inclusief studenten, van het LCAB.

Al voordat ik daadwerkelijk begon te werken bij de hogeschool werd ik door Willem van Leeuwen betrokken bij zijn onderzoek. Een warmer welkom kon ik me niet wensen. Walter Zuijderduin is zeer goed ingevoerd in de wereld van subsidies en spreekt subsidietaal. Zonder Walter was het nooit gelukt drie succesvolle onderzoeksvoorstellen in twee maanden in te dienen. Onderzoeksprojecten binnenhalen is natuurlijk leuk, maar ze moeten ook uitgevoerd worden. Gelukkig word ik daarin bijgestaan door projectmanagers Marijke Mostert en Aeneas Verrópoulos. Chantal Terstegen ben ik dankbaar voor haar hulp bij het schrijven van jaarrapportages. Saskia Kanij dank ik voor de mooie website van het lectoraat en Karin Plaatje heeft een grote bijdrage geleverd aan alle marketing en communicatie rondom deze dag.

De docent-onderzoekers zijn de ruggengraat van het lectoraat. André van Roon, Maarten van der Horst, Natasja Carol-Visser, Anton Heemskerk, Alphert Christina en Karsten Kaspers: dank voor jullie uitstekende werk. Zonder jullie wordt het onderzoek niets. Dit geldt ook voor de stagestudenten. Sarah Rothman, Nick Jansen, Chivany Soemai, Martin Brussee, Emma Nienhuis, Faysal Sbaa en Frans Zweipfenning, bedankt voor jullie enthousiasme en harde werk!

Een metabolomics-lab zonder werkende apparatuur is nergens. Gelukkig zorgt analist Richard van Rijn ervoor dat het studenten en docenten aan niets ontbreekt om hun experimenten te kunnen doen. Sietse Kuipers en Jurriaan Beckers hebben hieraan ook bijgedragen.

Zonder funding geen onderzoek en ik ben het Regiorgaan Praktijkgericht Onderzoek SIA dan ook zeer erkentelijk voor de financiering van mijn onderzoek. Om onderzoek gefinancierd te krijgen is een sterk consortium met partners uit de publieke sector en het MKB onontbeerlijk. Ik dank al mijn samenwerkingspartners voor hun vertrouwen en bereidheid samen met het lectoraat onderzoek te doen. Het zijn er te veel om op te noemen, maar een paar wil ik niet onvermeld laten: Krijn Trimbos van het Centrum voor Milieukunde Leiden, Berry van Hoorn en Johan Mols van Naturalis, Marcel de Puit van het Nederlands Forensisch Instituut, Rob van der Heijden van Bruker Daltonics en Bas Trietsch van MIMETAS. Ook dank ik Merlijn van Rijswijk van het Netherlands Metabolomics Institute voor het mede-organiseren van deze dag.

Hoe leuk het op het LCAB ook is, ik fiets ook fluitend naar de universiteit. Working at the Leiden Academic Centre for Drug Research and, in particular, the Analytical BioSciences & Metabolomics group offers me an inspiring environment cramped with cutting edge technology and ambitious people from all over the world. I hugely enjoy being copromoter of Simon Leygeber, Zhengzheng Zhang, Yupeng He, Farideh Hosseinkhani and Amar Oedit. Never a dull moment! Thank you for all in depth discussions on various aspects of analytical chemistry, metabolomics and how life is in various places of the world. I also want to thank Ischa Bremer for bringing the potential of DLLME-SFO under my attention while following the first years' Analytical Chemistry course. Isabelle Kohler, thanks for many deep conversations about life while enjoying good coffee. I want to highlight Loes Beijersbergen, who, as office manager, has been crucial for the group for so many years. Thank you for caring so much, Loes.



Thomas, in a way it is a miracle that we are still working together after all those years. I consider myself lucky. I admire your energy, your optimism and your pace. It is sometimes hard to keep up! But when no one sees any possibilities, you still do. Thank you for your vision and for being supportive to my ambitions. I hope I can be part of your group for many years to come. Hubertus Irth, thank you for appointing me as guest-assistant-professor at the LACDR.

Ik sta waar ik nu sta dankzij mijn vrienden en familie.

Ubbo, bedankt voor je mentorschap. Ik heb ontzettend veel van je geleerd. Jan-Willem, ik geniet van het sparren over houtbewerken. De leden van de Dr. Agnaac en zijn hond Drieluik, MSc-appgroep, oftewel Marten, Vivian, Bas en Henk, dank voor jullie humor, muzikaliteit en gedeelde ornithologische obsessie.

Wouter, samen bestormen we de hemel al 20 jaar, laten we dit blijven doen. Joost, jij brengt systeemdenken op een andere manier in de praktijk, ik vind dat heel inspirerend. Wouter en Joost, het is moeilijk te overschatten hoeveel jullie voor me betekenen.

Anneke en Bert, vanaf het eerste moment, 17 jaar geleden, ben ik al welkom bij jullie. Dank dat jullie zo'n geweldige dochter op de wereld hebben gezet.

Ik kom, zoals dat zo mooi genoemd wordt, uit een goed nest. Pa en ma, jullie hebben me altijd gestimuleerd in mijn nieuwsgierigheid en daarmee de basis gelegd. Ruben, Nynke en Irene, wat heerlijk dat we samen kunnen genieten van onze gezinnen. Ruben, ik leer van jouw werkervaringen.

Maartje, zonder jou ben ik minder dan de helft van mezelf.

Yfke en Rosa, ik hou heel veel van jullie en ben er trots op dat ik jullie papa ben.

*Ik heb gezegd.*

## 16. Bronvermelding

- [1] <https://nl.wikipedia.org/wiki/Hielprik>. Geraadpleegd op 26-2-2019.
- [2] Martinez FD. *Genes, environments, development and asthma: a reappraisal*. European Respiratory Journal 2007, 29 (1), 179-184.
- [3] [https://en.wikipedia.org/wiki/Metabolic\\_pathway](https://en.wikipedia.org/wiki/Metabolic_pathway). Geraadpleegd op 26-2-2019.
- [4] King AJ, Sumpter DJT. *Murmurations*. Current Biology 2012, 22(4) R112-R114.
- [5] Griffin JL. *Metabolic profiles to define the genome: can we hear the phenotypes?*  
Philosophical transactions of the Royal Society B. 2004, 359, 857-871.
- [6] Wishart DS et al. HMDB 4.0: *the human metabolome database for 2018*. Nucleic Acids Research 2018, 46(D1), D608–D617.
- [7] [https://nl.wikipedia.org/wiki/Analytische\\_chemie](https://nl.wikipedia.org/wiki/Analytische_chemie). Geraadpleegd op 26-2-2019.
- [8] Guthrie R, Susi A. *A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants*. Pediatrics 1963, 32(3), 338-343.
- [9] <https://www.rivm.nl/hielprik/ziektes-die-hielprik-opspoor>.  
Geraadpleegd op 26-2-2019.
- [10] Van der Vlis E, Mazereeuw M, Tjaden UR, Irth H, Van der Greef J. *Combined liquid-liquid electroextraction and isotachophoresis as a fast on-line focusing step in capillary electrophoresis*. Journal of Chromatography A 1994, 687(2), 333-341.
- [11] Lindenburg PW, Seitzinger R, Tempels FWA, Tjaden UR, Van der Greef J, Hankemeier T. *Online capillary liquid-liquid electroextraction of peptides as fast pre-concentration prior to LC-MS*. Electrophoresis 2010, 31(23-24), 3903-3912.
- [12] Lindenburg PW, Tempels FWA, Tjaden UR, Van der Greef J, Hankemeier T. *On-line large-volume electroextraction coupled to liquid chromatography-mass spectrometry to improve detection of peptides*. Journal of Chromatography A 2012, 1249, 17-24.

- [13] Lindenburg PW, Tjaden UR, Van der Greef J, Hankemeier T. *Feasibility of electroextraction as versatile sample preconcentration for fast and sensitive analysis of urine metabolites, demonstrated on acylcarnitines*. Electrophoresis 2012, 33(19-20), 2987-2995.
- [14] Lindenburg PW. *New electromigration-driven enrichment techniques for peptidomics and metabolomics*. Thesis Division of Analytical Biosciences/Leiden/Amsterdam Center for Drug Research (LACDR), Faculty of Science, Leiden University, 2012.
- [15] Raterink RJ, Lindenburg PW, Vreeken RJ, Hankemeier T. *Three-phase electroextraction: a new (online) sample purification and enrichment method for bioanalysis*. Analytical chemistry 2013, 85 (16), 7762-7768.
- [16] Schoonen JW, Van Duinen V, Oedit A, Vulto P, Hankemeier T, Lindenburg PW. *Continuous-flow microelectroextraction for enrichment of low abundant compounds*. Analytical chemistry 2014, 86 (16), 8048-8056.
- [17] <https://www.lipidmaps.org>. Geraadpleegd op 26-2-2019.
- [18] Wenk MR. *The emerging field of lipidomics*. Nature Reviews Drug Discovery, 2005, 4, 594-610.
- [19] Mondot S, Lepage P. *The human gut microbiome and its dysfunctions through the meta-omics prism*. Annals of the New York Academy of Sciences 2016, 1372 (1), 9-19.
- [20] Schroeder BO, Bäckhed F. *Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease*. Nature Medicine 2016, 22, 1079-1089.
- [21] Girod A, Ramotowski R, Weyermann C. *Composition of fingermark residue: A qualitative and quantitative review*. Forensic Science International 2012, 223(1-3), 10-24.
- [22] Huh D, Hamilton GA, Ingber DE. *From 3D cell culture to organs-on-chips*. Trends in Cell Biology 2011, 21, 745-754.

- [23] <https://www.weforum.org/agenda/2016/06/top-10-emerging-technologies-2016/>. Geraadpleegd op 26-2-2019.
- [24] Jang M, Neuzil P, Volk T, Manz A, Kleber A. *On-chip three-dimensional cell culture in phaseguides improves hepatocyte functions in vitro*. *Biomicrofluidics* 2015, 9(3), 034113.
- [25] Thomsen PF, Willerslev E. *Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity*. *Biological Conservation* 2014, 183, 4–18.
- [26] Lankadurai BP, Nagato EG, Simpson MJ. *Environmental metabolomics: an emerging approach to study organism responses to environmental stressors*. *Environmental Reviews* 2013, 21, 180–205.
- [27] Breithaupt T, Thiel M *Chemical Communication in Crustaceans*. Springer Science+Business Media. Chapter 13, 2011.
- [28] Huber R, Orzeszyna M, Pokorny N, Kravitz EA. *Biogene amines and aggression: experimental approaches in crustaceans*. *Brain, Behavior and Evolution* 1997, 50, 60–68.
- [29] Huber R, Delago A. *Serotonin alters decisions to withdraw in fighting crayfish. Astacus astacus: the motivational concept revisited*. *Journal of Comparative Physiology A* 1998, 182, 573–583.
- [30] <https://www.volkskrant.nl/wetenschap/reden-tot-zorg-dramatische-afname-aantal-insecten--ba5a3667/>. Geraadpleegd op 26-2-2019.
- [31] <https://www.theguardian.com/world/2018/mar/21/catastrophe-as-frances-bird-population-collapses-due-to-pesticides>. Geraadpleegd op 26-2-2019.
- [32] Miller MG. *Environmental Metabolomics: A SWOT Analysis (Strengths, Weaknesses, Opportunities, and Threats)*. *Journal of Proteome Research* 2007, 6, 540-545.

## 17. Curriculum vitae

Peter Lindenburg werd geboren op 23 oktober 1979 in Schiedam. In 1998 behaalde hij zijn vwo-diploma aan Scholengemeenschap Spieringshoek Schiedam. In hetzelfde jaar startte hij zijn studie Biologie aan de Universiteit van Leiden. In 2000 startte hij daarnaast met de studie Bio-Farmaceutische Wetenschappen, eveneens aan de Universiteit van Leiden. Gedurende zijn studietijd liep hij stage bij de Division of Analytical Biosciences (Leiden Academic Centre for Drug Research, Universiteit van Leiden) en het Laboratory of Analytical Chemistry (Universiteit van Helsinki, Finland). In 2005 behaalde hij een MSc in de Bio-Farmaceutische Wetenschappen en in 2006 in de Biologie.



Van 2006 tot en met 2010 werkte hij aan zijn promotieonderzoek bij de Division of Analytical Biosciences (Leiden Academic Centre for Drug Research, Universiteit van Leiden). In 2012 is hij gepromoveerd op het proefschrift 'New Electromigration-Driven Enrichment Techniques for Peptidomics and Metabolomics'. Na een periode als postdoc bij het Netherlands Metabolomics Centre keerde hij in 2014 als universitair docent terug bij het LACDR. Hier begeleidt hij meerdere promovendi en is verantwoordelijk voor het eerstejaars vak Analytische Chemie voor studenten Bio-Farmaceutische Wetenschappen. In 2016 werd hij daarnaast aangesteld als lector Metabolomics bij Hogeschool Leiden. In 2017 trad hij toe tot de Onderwijs Advies Commissie van de opleiding Chemie van Hogeschool Leiden. Sinds 2012 is hij bestuurslid van de Werkgroep Scheidingsmethoden, van de Koninklijke Nederlandse Chemische Vereniging.

Zijn onderzoek, waarin hij innovatieve monstervoorbewerkingstechnieken en nieuwe scheidingsmethoden in combinatie met massaspectrometrie ontwikkelt, heeft geleid tot verscheidene patenten en enkele tientallen publicaties.

Het onderzoek richt zich op twee aandachtsgebieden. Ten eerste het ontwikkelen van analytisch-chemische methoden om de slagkracht van metabolomics te vergroten. Hierbij gaat veel aandacht uit naar het ontwikkelen van snelle analytisch-chemische methoden die geschikt zijn voor de analyse van metabolieten in kleine monsters. Het tweede aandachtsgebied is het toepassen van metabolomics in onderzoeksgebieden waarin dit tot op heden nog slechts in beperkte mate gebeurt, zoals milieuwetenschappen, ecologie en de forensische wetenschap.



### Hogeschool Leiden

Zernikedreef 11  
2333 CK Leiden  
Postbus 382  
2300 AJ Leiden



071 - 518 88 00



[info@hsleiden.nl](mailto:info@hsleiden.nl)



[hsleiden.nl](http://hsleiden.nl)



[facebook.com/HSLeidenNL](https://facebook.com/HSLeidenNL)



[twitter.com/HSLeidenNL](https://twitter.com/HSLeidenNL)



[linkedin.com/company/hogeschool-leiden](https://linkedin.com/company/hogeschool-leiden)

ISBN 9789082138245



9 789082 138245