Universiteit
Leiden
The Netherlands

Systems diagnosis of chronic diseases, explored by metabolomics and ultra-weak photon emission

He, M.

Citation
He, M. (2017, April 13). *Systems diagnosis of chronic diseases, explored by metabolomics and ultra-weak photon emission*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/47897

Version:	Not Applicable (or Unknown)
License:	Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden
Downloaded from:	https://hdl.handle.net/1887/47897

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page

Universiteit Leiden

The handle http://hdl.handle.net/1887/47897 holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: He, M.
Title: Systems diagnosis of chronic diseases, explored by metabolomics and ultra-weak photon emission
Issue Date: 2017-04-13

SAMENVATTING

Chronische ziekten, zoals reumatoïde artritis (RA) en type 2 Diabetes (T2DM), zijn gerelateerd aan complexe pathologische processen en met mogelijk ernstige consequenties zoals inflammatoire symptomen, een verhoogd risico op ziekte, verlies van mobiliteit en sterfte. In een chronische ziektetoestand ontstaan vaak complexe biologische responsen, die leiden tot onvoorspelbare subtiele veranderingen in dynamische processen. Een systeembiologische analytische benadering, die omvangrijke datasets integreert, kan wellicht een uniek inzicht geven in de onderliggende pathofysiologische processen. In plaats van te zoeken naar één enkele variabele voor de beschrijving van een ziekteproces, richt de research in dit proefschrift zich op systemische beschrijving van chronische ziekten door gebruik te maken van methoden die systemische relevante gegevens opleveren. In het bijzonder wordt metabolomics gebruikt om grote datasets te genereren rond de concentratie van kleine metabolieten in combinatie met ultra-lage fotonemissie (Ultra-low Photon Emission, UPE) om een systeemperspectief te verkrijgen.

Gezien de relatief grote overeenkomsten met de humane situatie is het gebruikelijk om in research diermodellen voor chronische ziekten te gebruiken. In **Hoofdstuk 2 en Hoofdstuk 3** is metabolomics als methodiek gebruikt om op uitgebreide schaal de concentraties van kleine metabolieten te meten als uitlezing van de fysiologische status. Dit is toegepast op een collageen-geïnduceerd artritis muizenmodel (CIA) , dat veel gebruikt wordt in RA research, om relaties op het metabolietenniveau op te sporen in chronische situaties. Oxylipiden zijn bioactieve lipidenmediatoren, die gesynthetiseerd worden uit meervoudig onverzadigde vetzuren en die een belangrijke rol spelen in ontstekingsprocessen. De plasma concentraties van oxylipiden in CIA-muizen werden gemeten om inzicht te verkrijgen in ontstekingsprocessen en metabolieten, gerelateerd aan reactieve zuurstofverbindingen **(Hoofdstuk 2)**. In vergelijking met controle muizen, werden ontregelde oxylipiden aangetroffen in de CIA-muizen, die een reflectie kunnen zijn

van ontsteking en toegenomen reactieve zuurstofverbindingen. Bovendien, werd gevonden dat de collageen geïnduceerde artritis geassocieerd kan zijn met een ontregeling van de apoptose, wellicht door activatie van NF-κB ontstaan door gereduceerde niveaus van PPAR-γ liganden. Omdat vrije aminozuren – en de daarvan afgeleide biogene aminen – een essentiële rol spelen in zowel de energieproductie als de eiwit-synthese/degradatie, zijn de plasmaconcentraties van aminozuur-gerelateerde metabolieten in CIA-muizen ook gemeten, zodat er een beter inzicht verkregen werd rond de metabolieten, betrokken bij energieregulatie (**Hoofdstuk 3**). Er werden verlaagde niveaus van zowel vrije aminozuren als biogene metabolieten gevonden hetgeen suggereert dat er een link is tussen CIA en spierafbraak/energieverbruik. Uit deze studies werd gevonden dat oxylipiden en amine-metabolieten een weerspiegeling geven van CIA, maar beiden vanuit een ander perspectief op de vermeende pathofysiologische processen. Systeembiologie gebaseerd op metabolomics, kan derhalve nieuwe inzichten verschaffen in de pathofysiologie van onderliggende processen.

De op correlatie-netwerk gebaseerde analyses bieden de mogelijkheid om gegevens te integreren, die verkregen zijn uit verschillende technische platforms, zodat een correlatie-gebaseerd begrip verkregen kan worden van systemische interacties en regulatie. UPE is een niet-invasieve methode om fotonen te meten, waarbij het belangrijk is dat de UPE-emissie gecorreleerd kan worden met oxidatieve metabole processen. In **Hoofdstuk 4** is correlatie-netwerk analyse toegepast om de relatie tussen metabole processen en UPE te verkennen, door de data gemeten aan dezelfde muizen van **Hoofdstuk 2 en Hoofdstuk 3** te integreren. Deze studie leverde belangrijke informatie op en gaf inzicht in het ziekteproces vanuit een systeemvisie. Zo blijkt uit deze studie dat de toename van UPE bij de voortgang van artritis geassocieerd is met specifieke metabole processen, in het bijzonder lipidenoxidatie, ontsteking-gerelateerde metabolieten en/of ROS-gemedieerde processen. Deze resultaten betekenen een belangrijke stap voorwaarts in de wijze waarop datasets geïntegreerd kunnen worden om complexe processen

in RA te bestuderen, maar leveren ook een verdere onderbouwing over de relatie tussen metabole processen en UPE.

Diermodellen hebben specifieke voordelen voor de bestudering van chronische processen. In het bijzonder is het voor de researcher eenvoudiger om potentieel verstorende factoren van de resultaten en de interpretatie daarvan uit te sluiten of te controleren. Onder dergelijk factoren kunnen leeftijd, geslacht, genetische achtergrond, duur van de ziekte, blootstelling aan medicatie etc. gerekend worden. Echter ondanks het feit dat diermodellen kwalitatieve overeenkomsten met de chronische ziekteprocessen bij de mens hebben, zijn er ook duidelijke verschillen door genetische variatie en andere factoren. Derhalve moeten biologische mechanismen die relevant gevonden worden in diermodellen, zorgvuldig geëvalueerd worden in patiënten en gevalideerd worden in humane klinische studies.

Epidemiologische studies laten een snelle toename zien in het voorkomen van chronische ziekten, waarbij een groot aantal patiënten met lichte klinische symptomen niet gediagnosticeerd worden. Zo kunnen milde fysiologische verstoringen over vele jaren plaatsvinden voordat zich ernstige symptomen voordoen. Niet gediagnosticeerde patiënten kunnen over langere tijd, op een verschillende wijze, chronische ziekten ontwikkelen met een uiteenlopende schaal van fenotypen. Behandelingen met een generieke aanpak (one drug – one target ; one-size-fits-all benadering) zijn uiterst beperkt vooral in de vroege fasen van ziekten, waarbij een geïndividualiseerde systeemaanpak noodzakelijk is. Ontwikkeling van een geïndividualiseerde benadering, gebaseerd op systeembiologie, kan de unieke klinische karakteristieken opleveren in individuele patiënten, zodat er meer inzicht wordt verkregen over de complexiteit en diversiteit van chronische ziekten.

Traditionele Chinese geneeskunde (TCM) is gebaseerd op een systeemvisie gecombineerd met geïndividualiseerde interventie-strategieën. Dit kan gebruikt

worden, om een betere beschrijving van ziektesyndromen of subtypen te verkregen, om vroege stadia van syndromen of chronische ziekten op te sporen. Deze beschrijving kan dan als diagnosegids dienen, in een vroeg stadium van syndromen van chronische ziekten en verrijkt tevens onze kennis voor geïndividualiseerde diagnose. Metabolomics kan meer wetenschappelijk bewijs leveren van op TCM-gebaseerde diagnostiek door opsporing van de onderliggende biologische mechanismen en geïndividualiseerde diagnose, daarbij een brugvormend tussen TCM en Westerse geneeskunde. UPE reflecteert zowel de fysiologische als de pathologische toestand en heeft potentie als klinisch systeemdiagnostische methode. De combinatie van op TCM gebaseerde diagnostische concepten, metabolomics en UPE, kunnen elk met een unieke inbreng bijdragen aan de ontwikkeling en behandeling van chronische ziekten. Op basis van deze geïntegreerde aanpak kunnen er nieuwe mogelijkheden worden gecreëerd voor geïndividualiseerde geneeskunde onderbouwd met systeemdiagnose en systeembehandeling voor chronische ziekten, zoals beschreven in **Hoofdstuk 5**. Op basis van het gedachtegoed in Hoofdstuk 5 is er een verkennende studie uitgevoerd door de combinatie van metabolomics, UPE en TCM-diagnose, zie **Hoofdstuk 6**. In het bijzonder is de vermeende relatie tussen metabolomics en op TCM gebaseerde subtypering van vroeg stadium diabetes (pre-T2DM) bestudeerd en zijn de sleutelmetabolieten – voornamelijk plasmalipiden – die bijdragen aan de subtypering geïdentificeerd. Daarnaast werden deze plasma sleutelmetabolieten gecorreleerd met de UPE parameters, die eveneens gebruikt konden worden om dezelfde subtypen te identificeren in het cohort van pre-T2DM patiënten. Deze correlaties bleken verschillend te zijn voor verschillende subtypen. Deze verschillen zouden gebruikt kunnen worden voor het differentiëren tussen subtypen. Op basis van deze verschillen tussen subtypen kunnen mogelijk correlatienetwerken ontworpen worden om verbeterde diagnostiek te verkrijgen.

In de humane studie, beschreven in **Hoofdstuk 6**, is de haalbaarheid voor subtypering van patiënten met metabolomics, TCM-diagnose en UPE geïllustreerd. Deze studie liet zien dat zowel metabolomics als UPE toegepast kunnen worden

voor de subtypering van pre-T2DM patiënten. Daarenboven geeft de combinatie van metabolomics met UPE biomedisch bewijs voor de onderbouwing van TCM-gebaseerde diagnostiek. Ondanks deze veelbelovende resultaten, zijn er aanvullende studies nodig om de kennis verder te verrijken tot een systeemvisie gebaseerd op geïndividualiseerde diagnostiek.

Samenvattend, analyse uitgevoerd op een systeembiologisch niveau, verrijkt de kennis van chronische ziekten vanuit verschillende perspectieven door de integratie van verschillende bronnen van informatie. Deze systeembenadering vereist samenwerking tussen wetenschappers uit verschillende velden waaronder geneeskunde, analytische chemie , biologie en bioinformatica. In dit proefschrift is metabolomics gebruikt in een systeembenadering voor de bestudering van pathofysiologische mechanismen in chronische ziekten door de meting van een omvangrijk aantal kleine metabolieten en door het combineren daarvan met spontane UPE. Deze resultaten bevestigen de mogelijkheid om verschillende datasets te kunnen integreren en om complexe interacties te bestuderen in chronische ziekten. Bovendien verschaffen deze resultaten aanvullend bewijs voor het aantonen van een relatie tussen metabole processen en UPE.