



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Metabolomics to predict progression in chronic kidney disease

Dekker, S.E.I.

### Citation

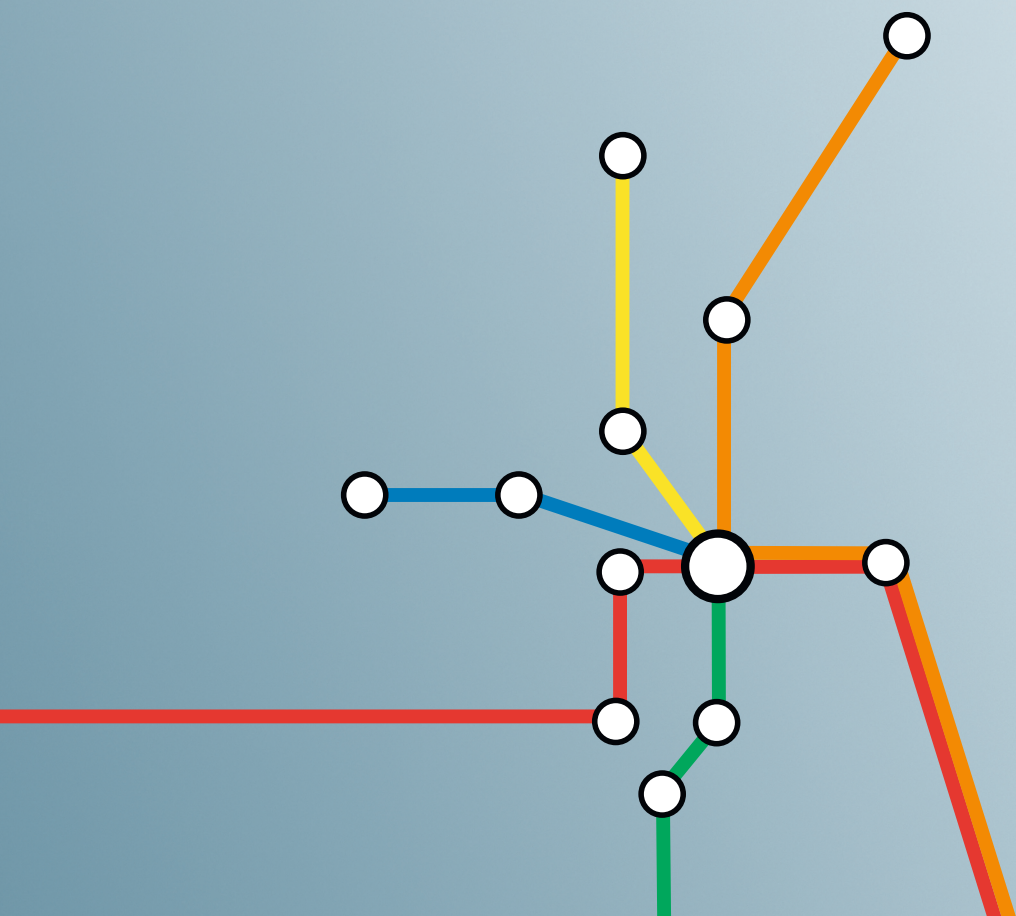
Dekker, S. E. I. (2024, November 7). *Metabolomics to predict progression in chronic kidney disease*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4107624>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4107624>

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



# 8

**Nederlandse samenvatting**

## Nederlandse samenvatting

### Introductie

De nieren zijn complexe organen en bezitten een verscheidenheid aan functies die essentieel zijn voor de gezondheid, waaronder het filteren van afvalstoffen en schadelijke producten uit de bloedsomloop, het handhaven van het evenwicht van verschillende processen in het lichaam en het reguleren en afscheiden van hormonen. Nierschade kan leiden tot een verstoorde werking van de nieren, waardoor verschillende gezondheidsproblemen kunnen optreden. Er wordt gesproken van acute nierschade (AKI) wanneer deze zich snel ontwikkelt en kort bestaat, en van chronische nierschade (CKD) als de nierfunctieachteruitgang meer geleidelijk optreedt en langer bestaat. De nierfunctie wordt bepaald door de snelheid waarmee de nierfilters, de glomeruli, het bloed filteren. De glomerulaire filtratiesnelheid (GFR) wordt gemeten in milliliter per minuut, gecorrigeerd voor lichaamsoppervlak.

CKD wordt gedefinieerd als een verminderde nierfunctie ( $GFR < 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ ) en/of de aanwezigheid van tekenen van structurele nierschade die langer dan drie maanden bestaat, ongeacht wat de oorzaak is. Op basis van de GFR, in combinatie met de mate van eiwitverlies in de urine, wordt het stadium van CKD bepaald, waarbij vijf stadia te onderscheiden zijn. De meest voorkomende oorzaken van CKD zijn suikerziekte en hoge bloeddruk. Voorbeelden van andere oorzaken zijn chronische nierfilterontsteking, hart- en vaatziekten en erfelijke nierziekten zoals polycysteuze nierziekten. Bij een aanzienlijk deel van de patiënten (10-20%) is de oorzaak van de nierschade echter niet vast te stellen.

CKD is een groot wereldwijd gezondheidsprobleem en heeft een aanzienlijke impact op zowel individuen als op de samenleving. Het kan niet alleen leiden tot eindstadium nierfalen, waarvoor nierfunctievervangende behandeling zoals dialyse of niertransplantatie nodig is, maar ook tot hart- en vaatziekten en vroegtijdig overlijden. Wereldwijd blijft de prevalentie van CKD stijgen en daarmee de impact op het mondiale welzijn. In Nederland ontvingen in december 2020 18.071 patiënten een vorm van nierfunctievervangende behandeling, wat ongeveer 1 per 1000 mensen in de bevolking betreft. Naar schatting lijden wereldwijd ongeveer 700 miljoen volwassenen aan CKD. In hoge- en middeninkomenslanden is de prevalentie van CKD naar schatting 1 op de 10 mensen. Naar verwachting zal CKD in 2040 de vijfde doodsoorzaak zijn.

### Biomarkers voor het voorspellen van nierfunctieachteruitgang

Biomarkers worden voor veel verschillende doeleinden gebruikt. Een biomarker wordt gedefinieerd als "een stof of eigenschap die objectief gemeten en geëvalueerd

kan worden als indicator van normale biologische processen, ziekteprocessen of farmacologische reacties op een therapeutische interventie". Verschillende biologische monsters, waaronder urine en bloed, worden gebruikt voor biomarkeronderzoek. Analyse van urine is met name interessant vanwege de brede beschikbaarheid van urine en de niet-invasieve methode van monstersampling. Dit maakt deze bron ideaal als platform voor biomarkeronderzoek.

Om verschillende redenen is het een uitdaging om chronische nierschade vast te stellen en het toekomstige ziektebeloop te voorspellen. Gezien de impact van CKD is het belangrijk om factoren te identificeren die geassocieerd zijn met progressieve nierfunctieachteruitgang, omdat hoog-risicopatiënten behandeling behoeven om het risico op morbiditeit en mortaliteit te verlagen.

In de klinische praktijk wordt gebruik gemaakt van de biomarker albuminurie, de aanwezigheid van een meer dan normale hoeveelheid eiwitten in de urine. Albuminurie is een aanwijzing voor nierschade. Hoewel is aangetoond dat albuminurie een sterke indicator is van de progressie van CKD, is er aanzienlijke variabiliteit in de snelheid van progressie die onverklaard blijft. Er is een onvervulde klinische behoefte om patiënten met CKD eerder in hun ziekteverloop te identificeren om te voorspellen wie baat kan hebben bij behandeling en daarmee ziekteprogressie te voorkomen. De afgelopen decennia zijn er veel verschillende alternatieve biomarkers onderzocht die van belang kunnen zijn voor het detecteren van nierschade. Tot op heden heeft geen van deze markers zijn weg gevonden naar de klinische praktijk. De ontdekking van nieuwe biomarkers, en in het bijzonder de validatie daarvan in een breed scala aan nierziekten, is vereist. Het combineren van meerdere biomarkers in een panel ten opzichte van een strategie met een enkele biomarker zou kunnen bijdragen aan de beoogde doelen.

### **Metabolomics**

Metabolomics is een discipline die zich richt op het bestuderen van biologische systemen. Deze technologie analyseert op een systematische wijze het metaboloom, de complete set van metabolieten, die door cellen worden geproduceerd en verantwoordelijk zijn voor metabole processen in organismen. Metabolomics biedt een analytisch kader voor de ontdekking van nieuwe diagnostische en voorspellende markers en kan daarnaast inzicht bieden in onderliggende pathofysiologische mechanismen van ziekten. Metabolieten, de tussen- en eindproducten van de stofwisseling, gemeten in lichaamsvloeistoffen, vertegenwoordigen het fysiologische fenotype van een organisme en zijn dynamische reactie op omgevingsinvloeden, pathofysiologische stimuli en biochemische aanpassingen van de biologische systemen. Er worden verschillende analytische technieken gebruikt waarvan massaspectrometrie

(MS) en kernspinresonantie (NMR) spectrometrie de meest gebruikte technieken zijn. In vergelijking met MS biedt NMR ongeëvenaarde analytische reproduceerbaarheid en vraagt het slechts minimale monstervoorbewerking, wat belangrijke kenmerken zijn voor het gebruik in klinisch onderzoek. Metabolomics is veelbelovend op het gebied van biomarkeronderzoek vanwege de mogelijkheid om een panel van markers te onderzoeken en de potentie om risicostratificatie bij nieraandoeningen te ondersteunen.

## Dit proefschrift

In dit proefschrift hebben we surrogaatbiomarkers onderzocht in een cohort van patiënten met een specifiek type chronische nierziekte, namelijk autosomaal dominante polycysteuze nierziekte (ADPKD). ADPKD is de meest voorkomende erfelijke nierziekte met een prevalentie van 3 tot 4 per 10.000 mensen. Voor het biomarkeronderzoek binnen dit proefschrift was een goed gedefinieerd, groot, homogeen cohort van patiënten met verschillende stadia van CKD beschikbaar, met een gestandaardiseerde, longitudinale follow-up. **Hoofdstuk 1** geeft een algemene introductie, waarin het belang van prognostische biomarkers bij CKD, de beperkingen van conventionele biomarkers voor dit doel en de potentie van alternatieve biomarkerplatforms voor risicostratificatie worden besproken.

### Urine biomarkers voor risicostratificatie bij CKD

Er zijn volgens de huidige literatuur meerdere kandidaten, waaronder NGAL, MCP-1 en  $\beta$ 2M, die veelbelovend zijn als surrogaatbiomarkers voor het voorspellen van ziekteprogressie bij CKD. Deze biomarkers zijn onderzocht in het kader van zowel CKD als AKI. **Hoofdstuk 2** omvat een review van urine surrogaatbiomarkers voor het voorspellen van ziekteprogressie bij CKD patiënten met ADPKD. Twee prognostische biomarkerpanels, een biomarker-score gebaseerd op  $\beta$ 2M gecombineerd met MCP-1 en daarnaast een peptidomicprofiel, zijn veelbelovend voor risicostratificatie bij ADPKD. Tot op heden worden geen van deze biomarkerpanels echter gebruikt in de klinische praktijk. De rol van urine biomarkers bij chronische nierziekten blijft onduidelijk en daarom nog steeds een belangrijk onderwerp van onderzoek.

Twee andere urine biomarkers, TIMP-2 en IGFBP7, zijn onderdeel van een diagnostische test die beschikbaar is voor AKI. Omdat AKI een belangrijke risicofactor is voor CKD, kunnen deze urine biomarkers potentieel ook interessant zijn voor CKD. In **hoofdstuk 3** onderzochten we de potentie van deze markers in een cohort van patiënten met ADPKD, omdat de pathofysiologie van ADPKD tubulaire dysfunctie omvat. We veronderstelden dat progressieve cystegroei en compressie van het omliggende weefsel een opeenstapeling van herhaalde acute ischemische events zou kunnen veroorzaken, resulterend in veranderingen in urine levels van TIMP-2 en/of IGFBP7. We ontdekten dat de levels van

TIMP-2 en IGFBP7 in de urine van patiënten met ADPKD niet significant hoger waren in vergelijking met die in de urine van gezonde controles. De levels verschilden ook niet tussen de verschillende stadia van CKD. Omdat de urine van patiënten met ADPKD meer verdund is wanneer de nierfunctie verder afneemt, hebben we hiervoor gecorrigeerd. Ook na correctie van TIMP-2 en IGFBP7 voor osmolaliteit verschilden de waarden niet tussen de verschillende stadia van CKD. Multivariabele analyses toonden geen associatie tussen zowel nierfunctie als niervolume en beide markers. Concluderend correleerden urine TIMP-2 en IGFBP7 levels niet met de mate van ziekteprogressie in dit cohort van CKD patiënten met ADPKD.

### **Alternatieve prognostische biomarkers**

Omdat een panel van markers bij kan dragen aan risicostratificatie bij nierziekten, is metabolomics in potentie een veelbelovend platform voor biomarkeronderzoek. In **hoofdstuk 4** en **5** hebben we onderzoek gedaan naar urine metabolomics met behulp van een gerichte, kwantitatieve NMR spectrometrie. In **hoofdstuk 4** hebben we negenentwintig metabolieten gekwantificeerd in urinemonsters van ADPKD-patiënten met verschillende stadia van CKD. Om na te gaan of deze metabolieten geassocieerd zijn met nierfunctie, hebben we een automatische optimalisatieprocedure toegepast om alle mogelijke combinaties van de gekwantificeerde metabolieten te bestuderen en de statistisch meest significante combinatie van metabolieten te selecteren. We hebben een subset van vier metabolieten geïdentificeerd (myo-inositol, 3-hydroxyisovalerate, ADMA en creatinine) die sterk geassocieerd is met nierfunctie. Om ziekteprogressie te voorspellen, hebben we onderzocht of de set van negenentwintig urine metabolieten geassocieerd is met nierfunctieachteruitgang in de tijd. Door dezelfde optimalisatieprocedure toe te passen als die gebruikt werd voor de analyse van nierfunctie, ontdekten we dat de alanine/citraat ratio het sterkst geassocieerd is met de snelheid van nierfunctieachteruitgang. Patiënten met een snellere nierfunctieachteruitgang hadden een hogere alanine/citraat ratio in de urine in vergelijking met patiënten met tragere nierfunctieachteruitgang. De urine ratio toonde toegevoegde waarde ten aanzien van conventionele markers, waaronder niervolume. De onderzoeksresultaten werden gevalideerd in een separaat cohort van patiënten met ADPKD. We concludeerden dat urine metabolomics een veelbelovend platform is voor risicostratificatie bij CKD. In **hoofdstuk 5** hebben we de kracht van dit platform verder onderzocht. We hebben vijfenvijftig urine metabolieten en ratio's gekwantificeerd (achtendertig urine metabolieten en zeventien fysiologisch relevante metabolieratio's) in een separaat cohort van ADPKD-patiënten. We ontdekten dat de meest optimale subset van markers om patiënten met een snelle nierfunctieachteruitgang te kunnen onderscheiden van die met een langzame nierfunctieachteruitgang, bestond uit een combinatie van twee urine metabolieten (betaïne en fenylacetylglycine) en één

metaboliet ratio (alanine/citraat). De prognostische waarde van dit metabolietmodel voor het identificeren van snelle progressoren op basis van één urine monster is vergelijkbaar met een conventioneel risicomodel gebaseerd op niervolume. Het combineren van beide modellen met elkaar versterkt de prognostische waarde verder. Om te kunnen evalueren of veranderingen in urine levels van metabolieten over een follow-up periode van 3 jaar verschillen tussen patiënten met snelle en langzame nierfunctieachteruitgang, hebben we aanvullend longitudinale analyses uitgevoerd. We ontdekten een stijging van de myo-inositol/citraat ratio in de loop van de follow-up periode in de urinemonsters van snelle progressoren, terwijl er geen significante verandering werd aangetoond bij patiënten met langzaam progressieve nierziekte. Met deze studie bevestigden we dat urine metabolomics een veelbelovende, eenvoudige benadering biedt voor risicostratificatie bij CKD.

Naast risicostratificatie bevat het 'perfecte' biomarkerpanel idealiter aanvullende kenmerken om klinisch relevant te kunnen zijn, waaronder de reactie op een interventie om de effectiviteit van therapie te beoordelen en prognostische inzichten te bieden in een ziekte. Polycysteuze leverziekte (afgekort als PLD) is een belangrijke extra-renale manifestatie van ADPKD. In situaties van intra-hepatische galzuuraccumulatie, zoals cholestase, kunnen verhoogde levels van galzuren (afgekort als BA) leiden tot schade aan de galwegcellen. Uitscheiding via de urine van overmatige galzuren kan op zijn beurt bijdragen aan beschadiging van het epitheel in de nierbuisjes. In **hoofdstuk 6** onderzochten we galzuren als markers voor lever- en nierziekteprogressie in relatie tot de effectiviteit van behandeling met het geneesmiddel lanreotide, een somatostatine analoog. Met LC-MS/MS analyseerden we elf galzuren in serum en zes in urine monsters van ADPKD-patiënten met en zonder PLD. We veronderstelden dat de levels van galzuren in het serum van patiënten met PLD hoger liggen, en dat een somatostatine analoog invloed heeft op de hoogte van deze levels vanwege het therapeutische effect op de levergroei. We veronderstelden daarnaast dat de urine uitscheiding van galzuren verhoogd is bij patiënten met PLD, wat mogelijk kan bijdragen aan de progressie van nierziekte. Serum levels van taurine- en glycine-geconjugeerde galzuren waren geassocieerd met leverbolume. Bij patiënten die behandeld werden met lanreotide werden lagere levels van galzuren gevonden. Deze afname was echter niet geassocieerd met een verandering in leverbolume. Of de verlaging van serum galzuren een causale rol speelt in het gunstige effect van lanreotide op levergroei blijft onbekend. In deze studie werd geen associatie gevonden tussen urine levels van galzuren en progressie van nierziekte.



**Conclusie**

Er is een onvervulde klinische behoefte aan sensitieve en specifieke niet-invasieve biomarkers die de zorg voor patiënten met nierziekten verder kunnen verbeteren. In dit proefschrift hebben we aangetoond dat het voorspellen van het beloop van chronische nierziekten verbeterd kan worden door het combineren van biomarkers in een panel. Dit biedt aanvullende prognostische waarde ten opzichte van conventionele markers. Een holistische 'omics'-benadering heeft potentie in de zoektocht naar het 'perfecte' biomarkerpanel vanwege de mogelijkheid om meerdere markers te onderzoeken en het vermogen om inzicht te bieden in onderliggende pathofysiologische mechanismen van ziekten, wat risicostratificatie bij nierziekten kan ondersteunen. Toekomstig onderzoek zou gericht moeten zijn op de verdere ontwikkeling van multi-marker panels en de validatie ervan bij een diversiteit aan patiënten met verschillende stadia en oorzaken van CKD. Daarnaast zou het waardevol zijn om onderzoek te doen naar de rol van biomarkers bij het voorspellen van de reactie op een behandeling. Gepersonaliseerde geneeskunde wordt steeds relevanter met de komst van nieuwe ziekte-modificerende behandelingen en de behoefte om het effect daarvan op individueel niveau te kunnen evalueren, zodat het type behandeling en de dosering verder geïndividualiseerd kunnen worden.