



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Preclinical validation and mechanistic understanding of drug repurposing candidates for polycystic kidney disease**

Kanhai, A.A.

### **Citation**

Kanhai, A. A. (2025, October 28). *Preclinical validation and mechanistic understanding of drug repurposing candidates for polycystic kidney disease*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4280870>

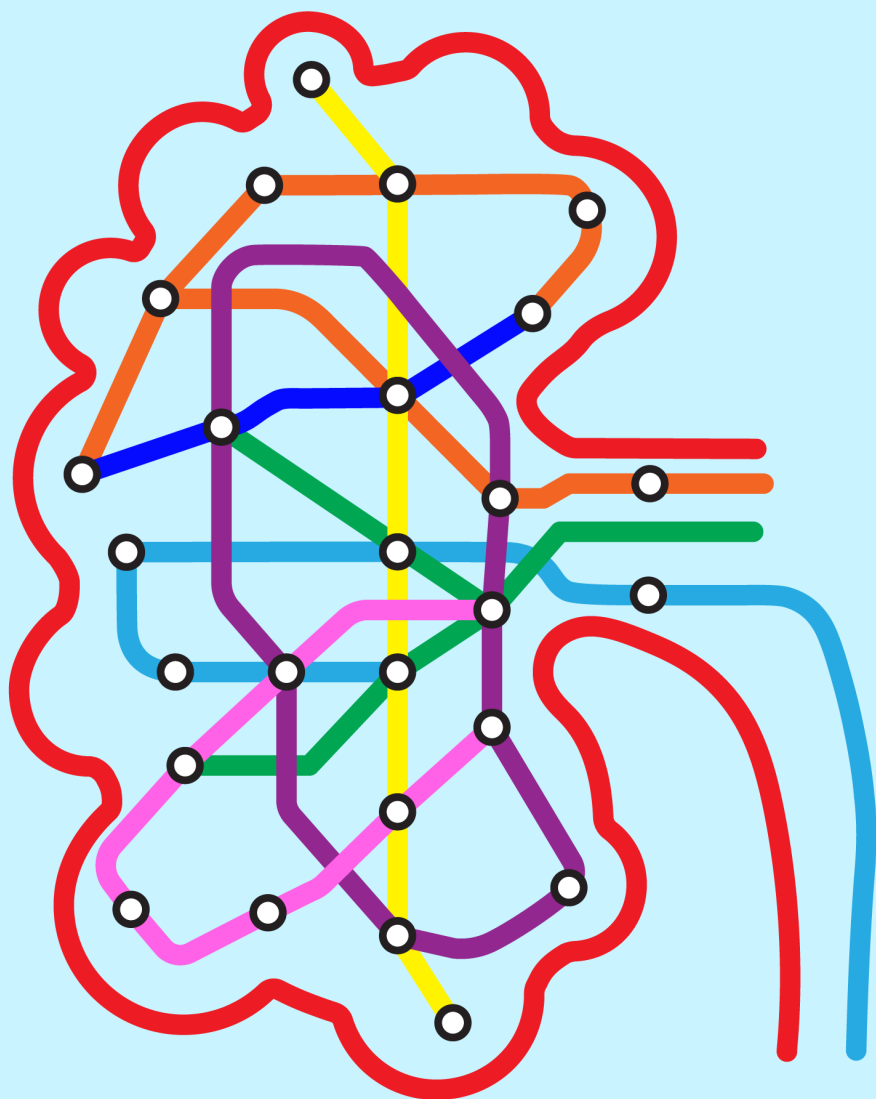
Version: Publisher's Version

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4280870>

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

# Appendix





## Nederlandse samenvatting

Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD), in het Nederlands bekend als autosomaal dominant overervende cystenieren, is een erfelijke aandoening die voorkomt bij ongeveer 1 op de 1000 tot 2500 mensen. ADPKD zorgt voor de vorming van met vloeistof gevulde blaasjes (cysten) in de nieren, die zowel in grootte als in aantal toenemen in de loop van de jaren. De cystevorming zorgt ervoor dat de nieren steeds slechter functioneren, wat uiteindelijk kan leiden tot nierfalen. Op dat moment is ofwel nierdialyse ofwel een niertransplantatie noodzakelijk. Momenteel is er maar één geneesmiddel toegestaan om ADPKD te behandelen: de vasopressine V2 receptor remmer tolvaptan (Jinarc®). Dit medicijn is echter niet geschikt voor alle patiënten. Tevens vertraagt het de ziekteontwikkeling, maar zorgt niet voor genezing. Er zijn dus nieuwe en betere medicijnen nodig voor deze patiëntengroep.

ADPKD wordt voornamelijk veroorzaakt door een mutatie in de genen voor *PKD1* ( $\pm 85\%$ ) of *PKD2* ( $\pm 15\%$ ), welke coderen voor de eiwitten polycystine-1 (PC-1) en polycystine-2 (PC-2). Door deze mutaties werken PC-1 en PC-2 minder goed, wat leidt tot een totale ontregeling van de communicatieprocessen in de niercellen (intracellulaire signalering). Deze ontregeling veroorzaakt de cystevorming en het uiteindelijke nierfalen. De aangetaste communicatieprocessen in ADPKD zorgen onder andere voor een toegenomen celdeling (celproliferatie), een switch van opbouwende naar afbrekende stofwisselingsprocessen (metabole reprogrammering) en voor een toename in het aantal ontstekingscellen (inflammatie) en ontstekingsstoffen (cytokines) in de nieren. In de afgelopen jaren zijn diverse behandelingen getest in preklinische modellen voor ADPKD en in patiënten, maar deze hebben nog niet geleid tot de ontwikkeling van een beter en effectiever medicijn. Het doel van dit proefschrift is dan ook om, op basis van de verschillende verstoorde communicatieprocessen, potentiële medicijnkandidaten te identificeren en hun veiligheid en werking te testen in preklinische modellen voor ADPKD. Zo hopen we nieuwe geneesmiddelen te vinden die geschikt zijn voor het testen in patiënten.

In **hoofdstuk 1** bespreken we uitgebreid de huidige kennis over het ontstaan van ADPKD, de betrokken verstoorde communicatieprocessen en de verschillende behandelingen die zijn en worden getest voor ADPKD.

In **hoofdstuk 2** onderzoeken we of een combinatiebehandeling van tolvaptan en de PPAR $\gamma$  agonist pioglitazone (een reeds toegestaan medicijn voor type 2 diabetes) het ziekteproces beter kan remmen dan behandeling met alléén tolvaptan of pioglitazone in een volwassen muismodel voor ADPKD. Tolvaptan is al goedgekeurd voor de behandeling van ADPKD, terwijl pioglitazone in eerdere preklinische studies de ziekteontwikkeling vertraagde in



muizen en ratten. Aangezien tolwavaptan en pioglitazone op verschillende punten van de verstoorde communicatie ingrijpen, zou een combinatiebehandeling van beiden kunnen zorgen voor een groter effect dan behandeling met maar één geneesmiddel. De combinatie van tolwavaptan en pioglitazone zorgde inderdaad voor een vertraging van het ziekteproces in de muizen, maar werkte niet beter dan de behandeling met alleen tolwavaptan. Onverwacht had de behandeling met alleen pioglitazone geen effect op het ziekteproces, wat mogelijk kan worden verklaard door de lage expressie van PPAR $\gamma$  in de muizennier.

In **hoofdstuk 3** vergelijken we het effect van drie al op de markt toegestane activators van AMPK: salsalate, metformine en canagliflozine. AMPK is een eiwit wat door de verstoorde communicatie minder actief is in ADPKD, en eerdere studies hebben laten zien dat behandeling met metformine zorgt voor een toegenomen activatie van AMPK en een vertraging van het ziekteproces in preklinische ADPKD modellen. Aangezien de vereiste dosis metformine niet geschikt is voor langdurig gebruik in ADPKD patiënten, zou de toevoeging van een tweede AMPK activator een deel van de werking van metformine kunnen overnemen, waardoor de dosis metformine kan worden verlaagd naar een niveau wat wel geschikt is voor ADPKD patiënten. In onze studie zagen we dat salsalate alleen en de combinatie van salsalate met metformine zorgde voor een vertraagde ziekteontwikkeling in ons volwassen muismodel. Behandeling met metformine alleen, canagliflozine alleen en de combinatie van canagliflozine met metformine hadden geen effect op de ziekteontwikkeling. Hieruit concludeerden wij dat behandeling met salsalate een veelbelovende nieuwe manier kan zijn om ADPKD te behandelen.

In **hoofdstuk 4** zijn we verdergegaan met het onderzoeken van salsalate, en hebben we bekeken welke verstoorde communicatieprocessen er hersteld worden door de behandeling met salsalate. Omdat de experimentele opzet van hoofdstuk 2 en 3 niet geschikt is om deze vraag te beantwoorden, hebben we hier gekozen voor een nieuwe opzet, waarin we volwassen muizen met een gemiddelde ziekteontwikkeling voor een korte tijd (twee weken) hebben behandeld met salsalate. Op deze manier kunnen we de effecten van salsalate beter onderscheiden. Door het in kaart brengen van de genexpressie (RNA-sequencing) en de metabolieten (metabolomics) in de nieren zagen we dat salsalate zorgde voor het herstel van meerdere aangetaste communicatieprocessen in ADPKD, waaronder celproliferatie, metabole reprogrammering en inflammatie.

In **hoofdstuk 5** hebben we ons gefocust op het actieve deel van salsalate, de stof salicylate. Naast het activeren van AMPK, kan salicylate ook andere eiwitten in niercellen activeren en/of remmen. Vele van deze eiwitten zijn ook betrokken in de aangetaste communicatieprocessen in ADPKD. Om te kunnen onderscheiden of de effecten van salicylate in niercellen op deze communicatieprocessen worden veroorzaakt door activatie van AMPK, of ook andere

eiwitten, hebben we verschillende niercellijnen behandeld met salicylate en twee andere AMPK activators, AICAR en A-769662. Experimenten met deze drie stoffen lieten zien dat de positieve effecten van salicylate/salsalate in ADPKD (het omkeren van de aangetaste communicatieprocessen: celproliferatie, metabole reprogrammering en inflammatie) voornamelijk toe te schrijven zijn aan de AMPK-activerende functie van salicylate. Verder laten we zien dat salicylate de groei van 3-dimensionale celkweken gebaseerd op nierweefsel van ADPKD patiënten kan remmen.

In **hoofdstuk 6** gebruiken we een nieuwe aanpak voor het identificeren en testen van mogelijke geneesmiddelen voor ADPKD. In een eerdere studie hebben wij door het combineren van drie verschillende databronnen (eerder verkregen genexpressiedata van ADPKD muizen, bio-informatische analyse en chemo-informatische analyse) een lijst van mogelijke medicijnen gemaakt en deze getest in 3-dimensionale celkweken. In deze experimenten was de 5-lipoxygenase activating protein remmer fibroflapon het meest veelbelovend. Daarom hebben we fibroflapon verder onderzocht en zagen we dat fibroflapon de groei van 3-dimensionale celkweken gebaseerd op muizenweefsel alsmede gebaseerd op nierweefsel van ADPKD patiënten kan remmen. Hierna hebben we fibroflapon getest in een jong muismodel voor ADPKD. Echter zagen we dat zowel een lage als hoge dosis fibroflapon geen effect had op de ziekteontwikkeling in deze muizen.

In **hoofdstuk 7** bespreken we de algemene resultaten zoals gepresenteerd in de voorgaande hoofdstukken, en geven we suggesties voor verder onderzoek naar mogelijke behandelmethodes voor ADPKD.

