



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Apo-calypse now? Apolipoprotein profiling to reduce residual cardiovascular disease

Reijnders, E.

Citation

Reijnders, E. (2025, October 30). *Apo-calypse now?: Apolipoprotein profiling to reduce residual cardiovascular disease.*

Version: Publisher's Version

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

Downloaded from:

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

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Elke nieuwe diagnostische test die in de klinische praktijk gebruikt zal worden, moet inspelen op een onvervulde klinische behoefte. Volgens het EFLM-evaluatiekader moeten vijf kernaspecten worden beoordeeld om van een veelbelovende biomarker een klinisch waardevolle en vergoedbare test te maken: analytische prestaties, klinische prestaties, klinische effectiviteit, kosteneffectiviteit en bredere impact. Deze aspecten zijn onderling verbonden en draaien allemaal om het klinische zorgtraject, met als uitgangspunt steeds de onvervulde klinische behoefte. In dit proefschrift wordt geprobeerd in te spelen op de nood aan een meer gepersonaliseerd beheer van residueel cardiovasculair risico door middel van een verfijnde, moleculair gedefinieerde diagnostische benadering. Tijdens het onderzoek in **Hoofdstuk 1** naar residueel cardiovasculair risico bleek dat dit begrip vaag gedefinieerd is en geen algemeen aanvaarde betekenis heeft. De meest volledige definitie verwijst naar het risico op hart- en vaatziekten bij een persoon die al optimaal wordt behandeld voor risicofactoren zoals hoog cholesterol, hoge bloeddruk, hoog glucose, en die ook leefstijladvies krijgt en wordt gecontroleerd op ontstekings- en stollingsfactoren. In de praktijk wordt het echter vaak eenvoudiger gedefinieerd als het risico dat overblijft na optimale lipidenverlagende therapie, bijvoorbeeld met statines. De huidige voorspelling van cardiovasculair risico is biochemisch gebaseerd op de klassieke lipidenwaarden (LDL cholesterol, HDL cholesterol, totaal cholesterol en triglyceriden). Om de risicovoorspelling te verbeteren en het residueel cardiovasculair risico beter aan te pakken, is gekozen voor een meer verfijnde aanpak met biologisch relevante biomarkers: apolipoproteïnen.

De wetenschappelijke onderbouwing en klinische relevantie van het apolipoproteïnepanel worden besproken in **Hoofdstuk 2**. Apolipoproteïnen zijn sleuteleiwitten in het lipidenmetabolisme en geven mogelijk een beter beeld van iemands lipidenhuishouding dan traditionele lipiden. Negen apolipoproteïnen werden geselecteerd voor het onderzoek: Apo(a), ApoA-I, ApoA-II, ApoA-IV, ApoB, ApoC-I, ApoC-II, ApoC-III en ApoE (inclusief het fenotype van ApoE). Sommige van deze eiwitten, zoals ApoB, hebben hun klinische waarde bij cardiovasculaire ziekten al bewezen en presteren zelfs beter dan LDL-C bij risicovoorspelling. Ook Apo(a), dat gekoppeld is aan Lp(a), is belangrijk, omdat Lp(a) een genetisch bepaalde causale risicofactor is voor atherosclerotische hartziekten en aortaklepstenose, ondanks dat de functie nog niet volledig duidelijk is. De overige apolipoproteïnen vereisten nader klinisch onderzoek. Omdat deze eiwitten onderling sterk samenhangen in een biochemisch netwerk, is het zinvol om ze als een geheel (in een apolipoproteïnepanel) te meten in plaats van afzonderlijk.

Uit zowel literatuuronderzoek als klinisch onderzoek blijkt dat apolipoproteïnen sterk met elkaar verweven zijn en functioneren als een geïntegreerd netwerk. Dit benadrukt de noodzaak om apolipoproteïnen als een multiplexpanel te meten, wat het best mogelijk is met massaspectrometrie

(MS). In tegenstelling tot immunoassays maakt MS het mogelijk om meerdere eiwitten gelijktijdig te meten via directe detectie van specifieke peptiden, zonder afhankelijkheid van monoklonale of polyklonale antistoffen. Een bekend probleem bij immunoassays is bijvoorbeeld de onnauwkeurigheid bij het meten van Lp(a) via Apo(a), als gevolg van de grote variatie in Apo(a)-isovormen in zowel patiëntmonsters als kalibratoren. Immunoassays gebruiken vaak polyklonale antistoffen die ook reageren met het herhalende KIV2-domein van Apo(a), wat leidt tot meetverschillen tussen methoden. Dit kan deels worden opgelost met meerdere kalibratoren. Onze MS-gebaseerde test voorkomt dit probleem door te kiezen voor Apo(a)-peptiden buiten het KIV2-domein, waardoor de meting onafhankelijk is van isovormvariaties. Zo biedt MS een hoge analytische specificiteit en omzeilt MS de problemen die gepaard gaan met isovormheterogeniteit. Kwantitatieve eiwit-MS is dan ook een veelbelovende technologie om problemen met specificiteit én standaardisatie op te lossen, dankzij de directe en molecuair gedefinieerde metingen die het mogelijk maakt. In **Hoofdstuk 4** tonen we aan dat massaspectrometrie toepasbaar is in grootschalige klinische studies. De kwaliteit van de metingen wordt daarbij geborgd door strikte vereisten, waardoor MS zich positioneert als robuust en betrouwbaar.

Om de klinische prestaties en effectiviteit van het apolipoproteïnepanel voor het voorspellen van patiëntuitkomsten te beoordelen, werd het apolipoproteïnepanel getest in twee verschillende populaties. De eerste populatie komt uit de NEO-studie, een grote observationele studie met voornamelijk mensen met overgewicht uit Nederland (**Hoofdstuk 5**). De tweede populatie komt uit de ODYSSEY OUTCOMES-trial, een gerandomiseerde, multicenter, gecontroleerde studie met patiënten die recent een acuut coronair syndroom (ACS) doormaakten en al behandeld werden met statines, met als doel het effect van een nieuw geneesmiddel, alirocumab (een PCSK9-remmer), te testen (**Hoofdstuk 6**). In de NEO-populatie verbeterde het apolipoproteïnepanel de voorspelling van cardiovasculaire gebeurtenissen, bovenop het klassieke lipidenpanel, bij mensen zonder eerdere cardiovasculaire aandoeningen. In de ODYSSEY OUTCOMES-populatie werd ook het apolipoproteïnepanel toegevoegd aan het klassieke lipidenpanel, en verbeterde dit ook duidelijk de risicovoorspelling bij secundaire preventie. Wat we ook ontdekten is dat de apolipoproteïnen alleen cardiovasculaire gebeurtenissen (zoals majeure cardiovasculaire gebeurtenissen (MACE) of sterfte) voorspellen wanneer ze als compleet panel werden ingezet. Individuele apolipoproteïnen hadden geen significante voorspellende waarde op zichzelf. Deze bevindingen suggereren dat het apolipoproteïnepanel een waardevolle aanvullende test kan zijn binnen het klinische zorgpad voor cardiovasculair risicobeheer. Een andere opvallende observatie uit de ODYSSEY OUTCOMES-trial was dat de baselinewaarden van apolipoproteïnen konden helpen om patiënten te identificeren die baat zouden hebben bij alirocumab-behandeling (**Hoofdstuk 6**). Hoewel alirocumab niet rechtstreeks op apolipoproteïnen werkt (alirocumab remt PCSK9 waardoor endocytose en afbraak van LDL-receptoren in de lever afgeremd wordt), maakt de onderlinge verwevenheid van

apolipoproteïnen in het lipidenmetabolisme het mogelijk om met baselinewaarden te voorspellen wie waarschijnlijk goed op de therapie zal reageren. Verder onderzochten we in **Hoofdstuk 5** het potentieel van het apolipoproteïnepanel bij het verfijnen van de classificatie van dyslipidemieën. Dit bleek waardevol in het kader van type III hyperlipidemie, het metabool syndroom (MetS) en hypertriglyceridemie (HTG). Hoewel de klinische prestatie en effectiviteit van de apolipoproteïne-test reeds in twee populaties is aangetoond, dient in een volgende fase nog onderzocht te worden wat de kosteneffectiviteit en bredere impact van dit panel is.

Omdat MS in staat is goed gedefinieerde proteotypische peptide fragmenten direct te meten zonder afhankelijkheid van antistoffen, onderzochten we de praktische toepasbaarheid ervan in **Hoofdstuk 7**. Daarbij vergeleken we MS met twee commercieel beschikbare testen voor de meting van Apo(a), het sterk heterogene kenmerkende apolipoproteïne van Lp(a). In totaal werden bij 11.970 deelnemers uit de ODYSSEY OUTCOMES-trial de Apo(a)-waarden gemeten met de in-huis ontwikkelde MS-multiplexmethode, en vergeleken met Lp(a)-metingen gemeten met het Siemens (immunonefelometrische) en Roche (immunoturbidimetrische) platform. Ook werd het effect van deze metingen op klinische eindpunten onderzocht. Op populatieniveau bleken alle drie de methoden vergelijkbaar in het voorspellen van cardiovasculaire uitkomsten, ondanks de analytische beperkingen van immunoassays door KIV2-polymorfismen in Apo(a). We hadden aanvankelijk grotere verschillen verwacht tussen de methoden, juist vanwege deze polymorfismen, die de nauwkeurigheid van immunoassays beïnvloeden doordat de antistoffen bepaalde isovormen over- of onderschatten. Hoewel de drie Lp(a) testen klinisch effectief bleken in het voorspellen van MACE en overlijden, toonden individuele patiëntgegevens duidelijke discrepanties met verschillen die klinisch relevant zijn en mogelijk leiden tot foutieve diagnoses of behandelingen in de toekomst. Deze bevinding benadrukt dat de performance van een medische test naargelang de testindicatie kan verschillen. M.a.w.: een test kan prognostisch vergelijkbaar presteren, maar toch aanzienlijke intraindividuele afwijkingen met classificatieverschillen meebrengen. In een tijdperk van precisiegeneeskunde, waarin diagnostiek en therapie steeds meer worden afgestemd op het individu, benadrukt dit het belang van MS als krachtige technologie voor gepersonaliseerde zorg.

In deze thesis is de klinische effectiviteit van een multiplex panel van serum apolipoproteïnen aangetoond voor het voorspellen van cardiovasculaire risico's en mortaliteit in twee verschillende populaties, maar ook voor het voorspellen van betere behandeluitkomsten met alirocumab in de ODYSSEY OUTCOMES trial, met meerwaarde ten opzichte van klassieke lipiden. De multiplex apolipoproteïne-test draagt derhalve bij aan precisiediagnostiek, ondersteunt gepersonaliseerde therapiekeuze en biedt potentie voor toekomstige therapie-monitoring. Deze bevindingen leggen de basis voor implementatie van het apo panel voor het duiden van het residuele cardiovasculaire risico bij optimaal statine gebruik. Het dient opgemerkt dat de kosteneffectiviteit en de bredere impact van het apo panel ook nog geëvalueerd dienen te worden.