Universiteit
Leiden
The Netherlands

Glycomic markers of inflammatory bowel disease and IgA nephropathy

Clerc, F.

Citation
Clerc, F. (2026, September 9). *Glycomic markers of inflammatory bowel disease and IgA nephropathy*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/4309483

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/1887/4309483

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

Nederlandse samenvatting

Eiwitglycosylering is een post-translationele modificatie waarbij koolhydraten (glycanen) worden gekoppeld aan eiwitten, wat hun stabiliteit, functie en herkenning beïnvloedt, zoals beschreven in **hoofdstuk 1** van dit proefschrift. Dit proces speelt een cruciale rol bij cel-cel communicatie, ontstekingsreacties en ziekteprocessen, en biedt aanzienlijke mogelijkheden voor de ontdekking van *biomarkers* voor ziekten. Door kenmerken van eiwitglycosylering in patiëntencohorten te bestuderen en deze te vergelijken met groepen van gezonde controles, beoogt het onderzoek in dit proefschrift het inzicht in ziekten te verbeteren teneinde aanknopingspunten te leveren voor diagnostische hulpmiddelen en gepersonaliseerde behandelingsstrategieën.

In dit proefschrift wordt een overzicht gegeven van de glycosylering van de vijfentwintig belangrijkste (meest abundante) humane plasma-glycoproteïnen (**hoofdstuk 2**). Vervolgens wordt onderzoek beschreven naar de veranderingen in glycosylering die worden waargenomen bij inflammatoire darmziekte (IBD, **hoofdstuk 3** en **hoofdstuk 5**) en IgA-nefropathie (IgAN, **hoofdstuk 4**). De twee belangrijkste varianten van IBD zijn de ziekte van Crohn (CD) en colitis ulcerosa (UC), beide chronische ontstekingsaandoeningen van het darmkanaal. De precieze oorzaken van deze ziekten zijn nog onbekend en ondanks beschikbare behandelingen, waaronder medicatie en chirurgie, komen terugvallen vaak voor. Bovendien is een vroege differentiële diagnose tussen CD en UC een uitdaging, aangezien de symptomen deels hetzelfde zijn. Het is van essentieel belang CD en UC te kunnen onderscheiden, omdat de therapeutische benaderingen verschillen. UC is meer lokaal, waardoor chirurgische verwijdering van het aangetaste gebied beter mogelijk is, terwijl CD meerdere gebieden van de darm tegelijkertijd kan aantasten, wat chirurgische behandelingen beperkt. De huidige diagnostische technieken zijn beperkt en het kan jaren duren voordat een diagnose is gesteld, vooral bij jonge patiënten, wat het belang benadrukt van preciezere en vroegtijdige *biomarkers*.

Het onderzoek dat in dit proefschrift wordt beschreven richt zich op plasma-eiwitglycosylering (**hoofdstuk 3**) en immunoglobuline A (IgA) glycosylering (**hoofdstuk 5**) als mogelijke *biomarkers* die onderscheid kunnen maken tussen deze ziekten en daarmee helpen bij vroege patiëntstratificatie via niet-invasieve procedures. Lagere galactosyleringsniveaus van immunoglobuline G (IgG) worden als marker van ontsteking toegepast bij zowel CD als UC. Bovendien zijn veranderingen in fucosylering- en sialyleringspatronen gekoppeld aan de ernst en progressie van de ziekte. Daarnaast zijn er in genoomstudies veranderingen geïdentificeerd in genen die coderen voor glycosyleringsenzymen bij IBD-patiënten, wat de verbinding tussen glycosylering en ontsteking verder benadrukt.

De eiwitglycosyleringsstudies die hier worden gerapporteerd onthullen veranderingen in sialylering, fucosylering en complexiteit in plasma-eiwitten bij IBD-patiënten, die verband houden met de ernst van de ziekte en de respons op behandeling. Door gebruik te maken van geavanceerde massaspectrometrie technologie en robuuste methoden voor monstervoorbewerking biedt dit onderzoek nieuwe inzichten in hoe glycosyleringspatronen verband houden met ziektefysiologie, wat kan leiden tot verbeterde diagnostische hulpmiddelen. **Hoofdstuk 3** van dit proefschrift maakt gebruik van *high-throughput* eiwitglycosyleringsanalyse met een robotplatform en een zogenaamde MALDI-TOF massaspectrometer om de totale plasma *N*-glycosylering in meer dan 3.500 monsters in kaart te brengen, waarbij talrijke associaties met IBD worden geïdentificeerd. Deze grootschalige studie biedt een robuuste dataset voor toekomstig onderzoek en effent het pad voor gepersonaliseerde behandelingsstrategieën.

Vervolgens worden deze resultaten verder geëvalueerd door glycosyleringsveranderingen van IgA bij IBD te onderzoeken, vanwege de cruciale rol van IgA in mucosale immuniteit. **Hoofdstuk 5** rapporteert nieuwe kenmerken van eiwitglycosylering die mogelijk kunnen dienen als *biomarkers* voor vroege ziektedetectie en patiëntstratificatie.

Een andere aandoening die in **hoofdstuk 4** van dit proefschrift wordt beschreven betreft IgA-nefropathie, ook bekend als de ziekte van Berger. IgAN is een nieraandoening die wordt veroorzaakt door abnormale glycosylering van IgA, wat leidt tot de vorming van immuuncomplexen in de glomeruli van de nieren en progressieve nierbeschadiging. De ziekte vordert langzaam, en patiënten kunnen jarenlang asymptomatisch blijven voordat ze nierfalen ervaren. Echter, wanneer de nierfunctie eenmaal verslechtert zijn de behandelingsopties beperkt tot dialyse of transplantatie. De onderliggende oorzaak van IgAN is slecht begrepen, maar het is bekend dat het afweersysteem antilichamen produceert tegen abnormaal geglycosyleerd IgA, wat leidt tot immuuncomplexvorming en nierontsteking.

Huidige diagnostische hulpmiddelen, zoals nierbiopten, zijn invasief en niet praktisch voor routinematige screening, wat de noodzaak benadrukt van niet-invasieve *biomarkers*. Het gebrek aan niet-invasieve biomarkers voor vroegdetectie vormt een belangrijke uitdaging voor clinici. Glycosyleringsafwijkingen bij IgAN betreffen voornamelijk lagere galactosyleringsniveaus van IgA1, wat resulteert in galactose-deficiënt IgA1 (Gd-IgA1), dat de ziekteprogressie bevordert. Verschillende lectine-gebaseerde assays zijn gebruikt om Gd-IgA1-niveaus te meten, echter zulke methoden zijn van beperkte waarde door selectieve glycaan-affiniteiten.

Dit proefschrift behandelt deze beperking door een nauwkeurigere en hoge-resolutie analytische methode te ontwikkelen op basis van massaspectrometrie. **Hoofdstuk 4** beschrijft deze aanpak en toont aan dat deze een betere associatie met de ernst van de ziekte vertoont dan de bestaande methoden. Dit proefschrift onderzoekt de eerder gerapporteerde glycosyleringsafwijkingen bij IgAN, met name de gerapporteerde verlaagde galactosyleringsniveaus van *O*-glycanen in IgA1, en rapporteert nieuwe *N*-glycosyleringskenmerken van IgAN, met mogelijkheden voor verbeterde diagnose en prognose van IgAN.

Over het algemeen wordt in het onderzoek dat in dit proefschrift wordt beschreven gebruik gemaakt van geavanceerde analytische technieken, waaronder MALDI-TOF-MS (**hoofdstuk 3**) en LC-ESI-MS (**hoofdstuk 4** en **hoofdstuk 5**), om glycosyleringspatronen op grote schaal te bestuderen. De automatisering van *high-throughput* glycaananalyse maakt de verwerking van duizenden patiëntmonsters mogelijk, vermindert bias, verhoogt de reproduceerbaarheid en statistische kracht, en biedt diepere inzichten in ziekteprocessen.

Een belangrijke innovatie in dit onderzoek is de automatisering van de voorbewerking van glycaanmonsters. De inzet van robotplatforms geeft deze studie een consistente monstervoorbewerking, wat technische variabiliteit minimaliseert en de betrouwbaarheid van gegevens verbetert. Voor plasma *N*-glycaananalyse wordt een chemische derivatisatietechniek toegepast die siaalzuren stabiliseert, waarmee analyse van maximaal 384 monsters per MS-run wordt vereenvoudigd (**hoofdstuk 3**). Voor IgA-glycopeptidenanalyse wordt een geoptimaliseerde workflow ontwikkeld met geïmmobiliseerde kameelachtige antilichaamdomeinen voor IgA-invang (**hoofdstuk 4** en **hoofdstuk 5**). Deze methode vervangt handmatige lectine-gebaseerde benaderingen, vermindert bias en verbetert schaalbaarheid.

De bevindingen beschreven in dit proefschrift hebben belangrijke biomedische en klinische implicaties, zoals besproken in **hoofdstuk 6**. Door ziekte-specifieke glycosyleringsveranderingen in kaart te brengen, draagt het onderzoek bij aan de ontwikkeling van nieuwe *biomarkers* voor IBD en IgAN. De identificatie van specifieke glycosyleringspatronen die verband houden met de ernst van de ziekte en de respons op behandeling kan meer precieze patiëntstratificatie en gepersonaliseerde therapeutische benaderingen mogelijk maken ("zorg op maat").

Bovendien vormen de ontwikkelde *high-throughput* methoden in dit onderzoek de basis voor toekomstige grootschalige eiwitglycosyleringsstudies, die mogelijk leiden tot nieuwe ontdekkingen bij andere immuun-gerelateerde aandoeningen.

Kortom, door het onderzoek dat is beschreven in dit proefschrift verbetert ons begrip van glycosyleringsveranderingen bij IBD en IgAN en worden nieuwe inzichten

in ziekteprocessen verkregen. De resultaten laten het potentieel zien van eiwitglycosyleringsanalyse voor verbeterde diagnostiek en prognose bij immunologische ziekten.