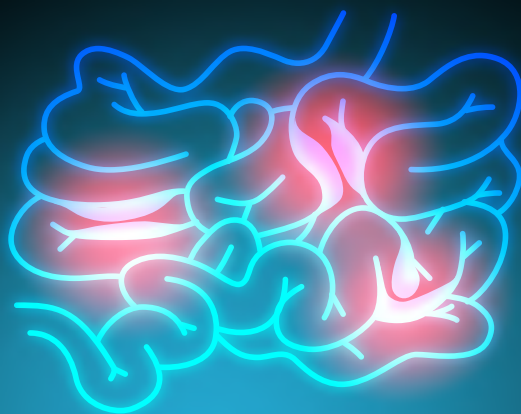


NOVEL BIOMARKERS AND IMAGING MODALITIES FOR FIBROSTENOSING CROHN'S DISEASE



Author
Apr. Simon Bos

Promotors
Prof. Dr. Debby Laukens
Prof. Dr. Lynn Vanhaecke

2024-2025

Dissertation submitted to obtain the degree 'Doctor of Health Sciences'



Het onderzoek beschreven in deze thesis werd uitgevoerd in de IBD Research Unit Gent
binnen de Vakgroep Inwendige Ziekten en Pediatrie,
Faculteit Geneeskunde en Gezondheidswetenschappen, Universiteit Gent

Promotoren

Administratieve promotor

Prof. Dr. Debby Laukens
Vakgroep Inwendige Ziekten en Pediatrie
Faculteit Geneeskunde en Gezondheidswetenschappen
Universiteit Gent, Gent, België

IBD Research Unit Gent

Promotor

Prof. Dr. Ir. Lynn Vanhaecke
Vakgroep Translationele Fysiologie, Infectiologie en Volksgezondheid
Faculteit Diergeneeskunde
Universiteit Gent, Gent, België

Laboratory of Integrative Metabolomics (LIMET)

Extra leden van de begeleidingscommissie

Dr. Sophie Van Welden
Vakgroep Inwendige Ziekten en Pediatrie
Faculteit Geneeskunde en Gezondheidswetenschappen
Universiteit Gent, Gent, België

IBD Research Unit Gent

Examencommissie

Voorzitter

Prof. Dr. Ir. Peter Van Eenoo
Faculteit Geneeskunde en Gezondheidswetenschappen
Vakgroep Diagnostische Wetenschappen
Universiteit Gent, Gent, België

DoCoLab

Secretaris

Prof. Dr. Marthe De Boevre
Faculteit Farmaceutische Wetenschappen
Vakgroep Bioanalyse
Universiteit Gent, Gent, België

Centre of Excellence in Mycotoxicology and Public Health

Leden van de jury

Prof. Dr. Ken Bracke
Faculteit Geneeskunde en Gezondheidswetenschappen
Vakgroep Inwendige Ziekten en Pediatrie
Universiteit Gent, Gent, België

Laboratorium voor Translationeel Onderzoek in Obstructieve Longziekten

Prof. Dr. Ir. Filip Van Immerseel
Faculteit Diergeneeskunde
Vakgroep Pathobiologie, Farmacologie en Bijzondere Dieren
Universiteit Gent, Gent, België

Livestock gut health team Ghent

Dr. Tom Holvoet
Gastro-enteroloog
VITAZ, Sint-Niklaas, België

Dr. Kirsty Houslay
Hoofdwetenschapper
RedX Pharma, Macclesfield, Verenigd Koninkrijk

Het volledige proefschrift kan geraadpleegd worden op de Ugent biblio, of kan verkregen worden via simon.bos@ugent.be of simon.bos.mail@gmail.com.

Samenvatting

Inflammatoire darmziekten (IBD) zijn chronische inflammatoire aandoeningen van de darm die worden opgedeeld in ulceratieve colitis (UC) en de ziekte van Crohn (CD). De afwisselende perioden van inflammatie en remissie zorgen voor herhaaldelijk weefselherstel, wat gepaard gaat met de accumulatie van littekenweefsel. Dit proces kan leiden tot het ontwikkelen van star en stug darmweefsel met vernauwingen en obstructies van het darmlumen tot gevolg. Omdat de onderliggende oorzaak van deze wildgroei aan fibreus weefsel nog niet voldoende gekend is, is er geen specifieke behandeling mogelijk. Het operatief wegnemen van het aangetaste darmweefsel is momenteel de enige curatieve behandeling, wat een enorme impact heeft op de levenskwaliteit van deze patiënten. Bovendien is het bijzonder moeilijk om fibrose in de darm vast te stellen.

Om bij te dragen tot het onderzoek naar anti-fibrotische behandelingen, werd een metabolomics analyse uitgevoerd op serum stalen van patiënten met de ziekte van Crohn, al dan niet met fibrose in de darm aanwezig. Via een gerichte metabolomics analyse werd een set van 11 differentiële metabolieten ontdekt die bestond uit een aanrijking van metabolieten die voorkomen in het arginine en proline metabolisme, een proces dat de bouwstenen voor collageen productie kan aanleveren. De aanvullende 'untargeted' metabolomics analyse leverde 166 differentiële componenten op die gezien kunnen worden als de vingerafdruk van fibrostenose in patiënten met CD. Bij analyses van humane intestinale fibroblasten (HIF), geïsoleerd uit fibrotische en niet-fibrotisch darmweefsel, werden karakteristieken van verhoogde glycolyse waargenomen, met name een verhoogde expressie van hexokinase 2 en solute carrier family 16 member 1. Metabolomics analyse van deze HIFs toonde aan dat de relatieve concentraties van korte keten dicarbozuren verschillend waren tussen de fibroblasten van beide segmenten. Bovendien ontdekten we 4 differentiële componenten die negatief correleerden met de genexpressie van hexokinase 2. Deze onderzoeksresultaten suggereren dat HIFs uit stenotisch weefsel een gewijzigd energie metabolisme vertonen.

Vervolgens bestudeerden we ook of het analyseren van glycomics patronen in serum soelaas kan brengen bij de diagnose van darmfibrose, zoals bij het opsporen van leverfibrose het geval is. We konden echter geen verschillen in N-gekoppelde glycaan abundantie waarnemen tussen de verschillende groepen, al zou het kunnen dat het aantal stalen in onze studie te beperkt was om duidelijk verschillen boven te halen.

Niettegenstaande dat serologische biomerkers alomtegenwoordig zijn in de medische diagnostiek, zal er toch steeds de voorkeur worden gegeven aan niet-invasieve diagnostische testen. Het is in dit opzicht dat we besloten om magnetisatietransfer (MT) en textuuranalyse (TA), toegepast bij magnetische resonantie beeldvorming (MRI), te onderzoeken. Het studieresultaat van onze dierenproef toonde dat een TA-parameter (entropie) als enige correleerde met de mate van histologische fibrose in een inflammatoire context. Een validatiestudie bevestigde dat entropie een goede merker is voor de graad van fibrose, alsook dat het effect van een experimentele anti-fibrotische behandeling hiermee opgevolgd kon worden. Ook een proof-of-concept studie in de kliniek gaf aan dat de entropie ratio (entropie van fibrotisch weefsel/ entropie van normaal weefsel) recht evenredig was met de graad van fibrose. We kunnen dus besluiten dat we met deze studie een nieuwe post-processing analyse parameter geïdentificeerd hebben die de graad van fibrose in de darm kan captureren en opvolgen.

Korte curriculum vitae

Simon Bos behaalde in 2016 met grote onderscheiding zijn master of science in genesmiddelontwikkeling en begon daarna zijn doctoraatsonderzoek aan de Faculteit Diergeneeskunde in het Laboratorium voor Integratieve Metabolomics onder leiding van prof. dr. ir. Lynn Vanhaecke. Hij maakte een doorstart aan de Faculteit Geneeskunde en Gezondheidswetenschappen in de IBD Research Unit van prof. dr. Debby Laukens aan de Universiteit Gent. Het doctoraat werd uitgevoerd onder supervisie van prof. dr. Debby Laukens en prof. dr. ir. Lynn Vanhaecke. Gedurende zijn doctoraat presenteerde Simon op toonaangevende nationale en internationale congressen, waaronder de Belgian Week of Gastroenterology, Metabolomics en UEGW, en ontving hij de prestigieuze BIRD onderzoeksbeurs in 2018, uitgereikt door de Belgian Inflammatory Bowel Disease Research and Development group.

Met zijn expertise in metabolomics droeg hij bij aan uiteenlopende onderzoeken binnen het laboratorium, eveneens voerde hij services uit voor bedrijven, variërend van histologische scoringen tot complexe cel-experimenten. Daarnaast volgde hij tal van gespecialiseerde opleidingen via het VIB en de UGent Doctoral Schools. Simon zet zijn carrière nu voort als consultant project engineer bij Pfizer, waar hij zijn wetenschappelijke kennis en ervaring verder inzet.

Publicaties als eerste auteur

MRI texture analysis of T2-weighted images is preferred over magnetization transfer imaging for readily longitudinal quantification of gut fibrosis.

Bos, S.*, De Kock, I.*, Delrue, L., Van Welden, S., Bunyard, P., Hindryckx, P., ... Laukens, D. (2023). EUROPEAN RADIOLOGY, 33(9), 5943–5952. <https://doi.org/10.1007/s00330-023-09624-x>, *:shared first authors (IF 5.9)

A comprehensive metabolite fingerprint of fibrostenosis in patients with Crohn's disease.

Bos, S., Lobatón Ortega, T., De Vos, M., Van Welden, S., Plekhova, V., De Paepe, E., ... Laukens, D. (2023). SCIENTIFIC REPORTS, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50461-1> (IF 4.6)

Metabolic modulation during intestinal fibrosis.

Bos, S., & Laukens, D. (2020). JOURNAL OF DIGESTIVE DISEASES, 21(6), 319–325. <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12882> (IF 2.3)

Dankwoord

Eindelijk kan het bevestigd worden: er is nog steeds licht aan het einde van de tunnel, een tunnel van meer dan 7 jaar PhD-onderzoek die ik de afgelopen jaren heb doorgereisd. Begrijp me niet verkeerd, de reis was zeker de moeite waard, maar ik ben blij dat ik nu nieuwe wegen kan inslaan. Zoals bij elke lange reis kruisen vele reizigers je pad, en sommige van die ontmoetingen zullen je altijd bijblijven. Dankzij deze medereizigers was er onderweg altijd hulp bij tegenslagen en kreeg ik bijstand op de moeilijker stukken. Ik wil graag de tijd nemen om een aantal van deze 'compagnons de route' te bedanken, wat niets afdoet aan het feit dat ik iedereen die me tijdens mijn PhD-reis heeft geholpen en gesteund zeer dankbaar ben.

Mijn PhD-traject begon aan de faculteit Diergeneeskunde (DGK), waar ik mijn masterproef maakte in het LIMET-lab van mijn copromotor, **prof. dr. Lynn Vanhaecke**, onder begeleiding van **Lieselot en Caroline**. Dit was mijn eerste kennismaking met wetenschappelijk onderzoek, en dankzij hun deskundige begeleiding beviel het me meteen. Het was dan ook een logische stap om bij hen een doctoraat te starten toen mij dit gevraagd werd. Lynn, bedankt voor je vertrouwen, je advies en je streven naar perfectie. Hoewel we elkaar minder spraken naarmate ik meer op het UZ zat, kon ik toch nog altijd op je terugvallen.

Na de initiële start op de DGK nam mijn PhD een doorstart op het UZ Gent, waar ik onder **prof. dr. Debby Laukens** onderzoek mocht doen naar inflammatoire darmziekten, met Lynn als copromotor. Debby, jij was mijn GPS in dit traject, die me de weg wees en me de kneepjes van het vak leerde, zeker op het gebied van wetenschappelijk schrijven heb je mij enorm geholpen. Jij en Lynn stelden de lat steeds hoger, wat niet altijd makkelijk was, maar achteraf gezien ben ik daar heel dankbaar voor. Bedankt voor jullie vertrouwen en steun.

Daarnaast was er **prof. dr. Martine De Vos**, een baken van wijsheid in mijn PhD-zee. Uw kennis, gedrevenheid en kritische blik hebben een grote bijdrage geleverd aan het eindresultaat van mijn doctoraat. Bedankt om altijd klaar te staan met advies, zelfs tijdens uw welverdiende pensioen.

I would also like to thank the **members of the reading and examination committee; prof. dr. Peter Van Eenoo, prof. dr. Marthe De Boevre, prof. dr. Ken Bracke, prof. dr. Filip Van Immerseel, dr. Tom Holvoet and dr. Kirsty Houslay**.

Op de DGK ontmoette ik **Ellen**. Samen begonnen we aan onze PhD-reis, wat een bijzondere band schepte. We gaven samen practica en beleefden, samen met andere PhD-studenten, fijne momenten zoals die ene keer toen we gingen go-karten in de manege. Hoewel we elkaar minder zagen na mijn overstap naar het UZ, kon ik altijd bij je terecht voor metabolomicsvragen of een luisterend oor. Jouw bureau voelde altijd aan als thuiskomen op de DGK.

Sophie, wat kan ik zeggen? Toen ik bij jullie in het lab begon, bestond ChatGPT nog niet, maar dat was ook niet nodig, want we hadden jou. Jij kende de details van elk protocol uit je hoofd en wist altijd raad. Jij was de go-to persoon voor experimentele muizenproeven en bij uitbreiding eigenlijk voor

bijna alle experimenten. Door de jaren heen zijn we meer dan collega's geworden en deelden we lief en leed, zowel binnen als buiten het lab. Bedankt voor je enthousiasme en hulpvaardigheid. Ik ben er zeker van dat we nog veel van jou zullen horen.

Cara, je was er vanaf dag één bij op het UZ-lab en ik mocht er eveneens bij zijn toen jij je doctoraat afrondde. We deelden hetzelfde traject, elk met onze eigen accenten, en beleefde veel plezier tot hilarische momenten samen. Bedankt voor je luisterend oor, je eigenzinnigheid en de goede tijden die we samen beleefden. Ondertussen heb je al een nieuw project gevonden, Lars genaamd, en ik ben er zeker van dat je ook dit project tot een goed einde zal brengen. **Marie T.**, ook jij was een constante in mijn doctoraatsbestaan. Hoewel je soms wat chaotisch kon lijken, bleef je steeds scherp in de wetenschap. Ik leerde je de wereld van metabolomics kennen en jij leerde mij focussen op een doel.

Laure, Sofie, Hannah, Jade en **Febe**, jullie zijn de nieuwe generatie maar zullen na mijn vertrek een plaats in de ranking opschuiven, de tijd vliegt. De 'oudjes' hebben hun werk gedaan, maar ik heb er het volste vertrouwen in dat jullie dat elk op jullie manier minstens even goed gaan doen. Bedankt voor de vele mooie momenten samen en blijf vooral jullie zelf.

Hilde, Griet D. en **Petra**, jullie waren en zijn de vaste rotsen in de labo branding. Jullie kennis en ervaring was onmisbaar, van het verzorgen van de muizen tot het uitvoeren van PCR's en eiwitblots. Hilde, een speciale dankjewel voor je hulp de laatste jaren, toen mijn twee handen niet genoeg waren voor het vele werk, honderdmaal dank hiervoor. **Sylvie**, ook jij bedankt om het papierwerk te helpen verlichten en te zorgen dat alle bestellingen en betalingen steeds correct werden uitgevoerd.

Isabelle, ook jij krijgt een welverdiende dankjewel. Onze samenwerking verliep steeds vlot en samen baanden we ons een weg doorheen alle MRI-scans en de bijhorende statistiek tot we ons mooie artikel als eindresultaat bekwamen. Ik zou iedereen een samenwerking met jou kunnen aanbevelen en wens je nog veel succes toe met het verder vertalen van onze bevindingen naar de kliniek.

Ook wil ik **prof. dr. Triana Lobatón** en **Elien G.** bedanken voor hun inspanningen vanuit de kliniek, evenals de chirurgen, in het bijzonder **dr. Dirk Van de Putte**, en de **dienst Pathologie** voor hun hulp bij het verzamelen van weefsel voor de fibroblastenbiobank. **Tom**, hoewel we maar kort samenwerkten, was jouw werk een belangrijke basis voor mijn onderzoek, bedankt om dat aanzetje te geven en mijn vragen ten gepaste tijde te beantwoorden. En natuurlijk ook dank aan **Lindsey, Aster, Sander, Sanne, Sarah, Helena, Bart** en **Kevin** van het toenmalige gastro-enterologie en hepatologie-lab voor de fijne momenten die er waren.

Naast het DGK- en UZ-lab was ik ook betrokken bij het Barriers in Inflammation-lab van **prof. dr. Roos Vandembroucke** aan het VIB. De wetenschappelijke interacties, presentaties en teambuildingactiviteiten verrijkten mijn kennis en zorgden voor een frisse blik. Bedankt aan iedereen in het lab, waaronder **Griet VI, Elien VW, Lien, Charysse, Arnout, Daan, Marlies, Wouter, Chirantan, Pieter, Joyce, Nele, Marie P.** en **Clint**, voor de mooie momenten op en naast de werkvloer.

Naast mijn wetenschappelijke collega's wil ik ook **mijn vrienden** bedanken voor hun steun. Jullie mentale support, interesse in mijn voortgang en de momenten van ontspanning samen waren onmisbaar.

Uiteraard wil ik ook mijn **familie** bedanken. In het bijzonder mijn **mama** en **papa**, bedankt voor jullie onvoorwaardelijke steun, voor de vrijheid die jullie me gaven in mijn studie- en levenskeuzes en voor de opvoeding die me heeft gevormd tot de wetenschapper die ik vandaag ben. Ik ben trots op wie ik geworden ben en dankbaar dat jullie altijd achter me stonden.

Ten slotte, **Louis**, bedankt voor je geduld, steun en geloof in mij. Je hebt mijn nachtelijke schrijffuren en stressmomenten moeten verdragen, maar hier zijn we dan, aan het einde van dit doctoraatshoofdstuk dat ik samen met jou kan afsluiten. Gelukkig is ons hoofdstuk samen nog lang niet voorbij en is er nog voldoende inkt om hieraan verder te schrijven.

Simon

Everything is theoretically impossible,
until it is done.
-Robert A. Heinlein-

Contact

Simon.bos@ugent.be of simon.bos.mail@gmail.com

T +32 9 332 58 30

Campus UZ Gent, Corneel Heymanslaan 10,
OMRB2, Ingang 38, 9000 Gent, België

Graag bedanken we ook onderstaande firma's voor de logistieke ondersteuning van de publieke verdediging:



