Maastricht University

Irritable bowel syndrome : pathophysiology, symptoms and biomarkers

Citation for published version (APA):

Mujagic, Z. (2015). *Irritable bowel syndrome : pathophysiology, symptoms and biomarkers*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Uitgeverij BOXPress || Proefschriftmaken.nl. https://doi.org/10.26481/dis.20151221zm

Document status and date:
Published: 01/01/2015

DOI:
10.26481/dis.20151221zm

Document Version:
Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

• A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
• The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
• The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

Link to publication

General rights
Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

• Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
• You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
• You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the “Taverne” license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy
If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Download date: 20 Apr. 2024

Summary

Summary

Irritable Bowel Syndrome is a highly prevalent functional gastrointestinal disorder, which often results in high symptom burden and significant impairment in quality of life of affected subjects. The multifactorial aetiology of IBS will contribute to various symptoms and distinct phenotypes. This thesis contained three parts, that focussed on i) the pathophysiology of IBS, ii) symptom assessment in IBS patients and iii) the development of new biomarker panels for IBS.

The aetiology of IBS is multifactorial, complex and incompletely understood. In part one of this thesis, we investigated several potential pathophysiological mechanisms of IBS, and modulation thereof.
In **chapter 2**, we studied alterations in intestinal permeability in IBS patients, with particular emphasis on IBS subtypes. A validated multi-sugar test was used to investigate gastro-duodenal, small intestinal, colonic and whole gut permeability in a large group of IBS patients and age and gender matched healthy controls. All analyses were adjusted for possible confounding effects of demographics, lifestyle factors, the presence of psychological symptoms and the use of medication. We found that small intestinal permeability, indicated by elevated urinary excretion of orally ingested lactulose and rhamnose ratio, was increased in diarrhoea predominant IBS patients when compared to healthy controls. This effect was still present after adjustment for possible confounders. Gastro-duodenal permeability, indicated by urinary sucrose excretion, was increased in the total IBS group, as well as in the diarrhoea and constipation predominant subtype. However, after adjustment for possible confounding effects, this association was no longer significant. For colonic and whole gut permeability, no significant differences between groups were found.
The findings presented in this study point to a different pathophysiological mechanism in the IBS-D subtype when compared to the other IBS subtypes, and demonstrate that adjustment for possible confounding factors is essential when investigating intestinal permeability, especially in a heterogeneous disorder as IBS.

Life bacteria, present in the gut as microbiota or ingested orally, interact with the host and may affect gut and immune function of humans. It is postulated that this interaction may be altered in IBS patients. In **chapter 3** and **chapter 4** of this thesis we investigated the effects of oral administration of three different *Lactobacillus plantarum* strains (all commensals of the human GI tract) on the intestinal barrier and mucosal and systemic immune function. These studies were carried out in healthy human subjects, after consumption of the NSAID indomethacin. NSAIDs are frequently consumed drugs, also by patients with IBS. These drugs have immuno-modulatory and enteropathic effects. In our studies, NSAIDs have been used as stress-model for the intestinal mucosa. Indomethacin induced an increase in small intestinal permeability,

which was in line with previous findings, but which was not affected by any of the bacterial interventions. However, intake of the bacterial strains did induce strain-dependent effects on gene transcription in intestinal mucosal cells. *L. plantarum* TIFN101 showed the most pronounced modulatory properties with regard to mucosal gene transcription, with positive effects on gene transcription of repair processes in the compromised intestine of healthy subjects, and upregulated genes associated with maintenance of T and B-cell function and antigen presentation. Furthermore, it enhanced the memory T-cell responses against *Staphylococcus aureus* enterotoxin B superantigen and tetanus toxoid. These studies provided further mechanistic insight how three different *L. plantarum* strains affect the host, and demonstrated that effects are strain specific. Furthermore, our findings provide new insights for the interactions between intestinal barrier, immune system and bacteria present in the gut lumen. This interplay is presumed to play an important role in the pathophysiology of IBS.

In **chapter 5** and **chapter 6**, we focused on visceral hypersensitivity in IBS patients, with emphasis on differences in clinical characteristics and specific biomarkers in hyper- versus normosensitive IBS patients. Visceral sensitivity was assessed using an electronic barostat with rectal balloon distention. Interestingly, the hypersensitive IBS patients were comparable to those patients classified as normosensitive with regard to demographic and lifestyle characteristics and medication use. Only younger age, female sex and the use of SSRI medication was significantly associated with the presence of visceral hypersensitivity in IBS patients. However in a multivariate logistic regression analysis only higher age was found to be significantly associated with lower odds for having hypersensitivity. No differences were observed with regard to predominant bowel habits, psychological factors, quality of life, medication use other than SSRIs, time since IBS diagnosis, percentage of patients with post-infectious type IBS, or lifestyle factors. Furthermore, the concentrations of calprotectin, human *β*-defensin 2, chromogranin A, and short chain fatty acids (measured in faeces), and serotonin, its principal metabolite 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) and citrulline (measured in plasma), reflecting several potential underlying mechanisms, did not differ significantly between normosensitive and hypersensitive IBS patients.
Taken together, our data raise the question whether the assessment of visceral sensitivity in IBS patients has relevant implications in daily clinical practice, since the differences between hyper- and normosensitive IBS patients were moderate. Nevertheless, it has to be acknowledged that the use of intestinal provocation tests in scientific research in this target population in the past decades has provided unique knowledge with regard to neural pain processing of intestinal stimuli and may also provide keys to tailored therapeutic interventions.

In **chapter 7** we have investigated platelet poor plasma serotonin (5-HT) and 5-HIAA levels and their ratio in a large cohort of IBS patients and healthy controls, including

extensive IBS subgroup analyses. While no differences were detected in plasma 5-HT between groups, 5-HIAA concentrations were significantly lower in IBS patients compared to controls, which was also true for 5-HIAA/serotonin ratio. Furthermore, subtype analysis (after adjustment for possible confounding factors) demonstrated that both 5-HIAA and 5-HIAA/serotonin ratio were significantly decreased, particularly in IBS patients with a mixed stool pattern (*i.e.* IBS-M). Furthermore, our data point to an influence of gender on the serotonin metabolism in IBS, but not of GI symptoms, anxiety and/or depression, lifestyle factors, or medication use.
This study demonstrated that although fasting serotonin plasma levels were not altered in IBS patients compared to controls, the differences in 5-HIAA levels may reflect altered serotonin metabolism in IBS patients, in particular in the IBS-M subtype.

Consensus on standard methods to assess chronic abdominal pain in patients with IBS is currently lacking. In the second part of this thesis we focused on methods for GI symptom assessment in IBS patients. First, in **chapter 8** the currently available instruments for assessing chronic abdominal pain in IBS patients have been evaluated in a systematic review. There was large variety in assessment tools used in the included studies, which hindered comparison between studies and pooling of data for a meta-analyses. Provocation tests, such as the rectal barostat, are often applied in studies that include IBS patients, and are useful tools to assess an acute response to artificial intestinal stimuli. However, the outcomes do not correlate well to chronic abdominal pain severity as assessed by retrospective questionnaires. Retrospective symptom assessment by paper questionnaires or diaries carry the risk of recall and ecological bias. Nevertheless, at this moment retrospective GI-symptom severity scales are frequently used, are easy to apply, and are the best validated methods for symptom assessment in IBS patients. However, these questionnaires in general include only the assessment of abdominal pain intensity. There is need for validated instruments to assess chronic abdominal pain in IBS patients that overcome the limitations of the currently available methods. Momentary symptom assessment, may be an alternative that can eliminate recall bias when measuring abdominal pain, but is a relatively new method in IBS studies, and further validation is needed.
In line with the conclusion of this review, we conducted a pilot study (**chapter 9**) to investigate the potential of Experience Sampling Method (ESM) for symptom assessment in IBS patients. ESM is based on digital momentary symptom assessment, which eliminates recall bias, reduces ecological bias and provides repeated symptom measures during the day. We found that end-of-day diary abdominal pain scores were higher compared to corresponding ESM mean-scores in IBS patients. The difference was even more pronounced for the end-of-week GSRS scores compared to ESM mean-scores. These findings indicate that subjects report peak pain rather than average pain scores in retrospective questionnaires. For flatulence, comparable results were found. Nausea and belching scores showed small, but significant differences between end-of-

day diary and ESM. All tested symptoms did score higher on GSRS compared to ESM mean-scores. Affective comorbidity did not influence differences in pain reporting between methods. This study showed that ESM can provide more insight in symptom course and potential triggers, and thereby may lead to a better understanding of IBS symptomatology.

The diagnosis of IBS is symptom-based and validated reliable biomarkers could aid the diagnostic process in daily clinical practice and scientific research. In the third and final part of this thesis, we focused on the development and validation of new biomarkers for IBS and their potential implication in the general population. Although considered a functional GI disorder, accumulating evidence exists for various subtle organic changes in IBS patients compared to healthy controls. These associations offer the chance for the development of biomarkers for IBS. The predictive values of several single markers investigated previously are however found to be low to moderate. We hypothesized that a combination of biomarkers that relate to several pathophysiological mechanisms of IBS is assumed to have sufficient power to overcome hurdles of sensitivity in this heterogeneous patient population with complex underlying aetiology and rather subtle organic changes. The predictive values of the markers investigated previously are low to moderate.
In **chapter 10** we combined faecal and plasma biomarkers related to several domains of gut health. All markers were measured in two large cohorts, *i.e.* a clinical IBS cohort with age and gender matched healthy controls without GI symptoms, and a general population cohort from which GI-symptom scores were available. An 8-item biomarker panel consisting of IL-1β, IL-6, IL12p70, TNF-α, CgA, HBD2, calprotectin and caproate, was identified to discriminate IBS patients form healthy controls with high sensitivity of 88% and specificity of 87%. When using the same 8-item biomarker panel to discriminate IBS subtypes from controls, comparable results were found. Furthermore, the biomarker panel correlated well with GI-symptom scores in a general population cohort.

In **chapter 11**, a holistic approach was used to identify new biomarkers, *i.e.* volatile organic compounds in exhaled air. A set of 16 VOCs that best distinguished IBS patients from healthy controls was identified. The VOC-biomarker set correlated significantly with GI symptoms in two independent cohorts. The set correctly predicted 89% of the IBS patients and 73% of the healthy controls.
Although further research is needed to test the applicability of these biomarker panels in daily clinical practice, these findings are important steps towards biomarkers based diagnosis of IBS.

In **chapter 12**, we give an overview of the major findings of this thesis, tried to integrate the different concepts that were discussed in the different chapters, and provide new hypothesis to be investigated in future studies that focus on IBS.

Samenvatting

Samenvatting

Het Prikkelbare Darm Syndroom (PDS), oftewel Irritable Bowel Syndrome (IBS) in het Engels, is een veel voorkomende functionele maagdarmaandoening. Bij PDS-patiënten leiden de klachten die gerelateerd zijn aan deze aandoening tot een duidelijke vermindering van de kwaliteit van leven. De multifactoriële etiologie van PDS levert een verscheidenheid aan symptomen en fenotypen op.
Dit proefschrift is opgedeeld in drie onderdelen, die zich richtten op i) de pathofysiologie van PDS, ii) het meten van symptomen bij PDS-patiënten en iii) de ontwikkeling en validatie van nieuwe biomarker sets voor PDS.

De etiologie van PDS is multifactorieel, complex en wordt nog steeds onvoldoende begrepen. In deel één van dit proefschrift bestudeerden wij diverse potentiële pathofysiologische mechanismen van PDS.
In **hoofdstuk 2** richtten wij ons op de veranderingen in intestinale permeabiliteit in PDS-patiënten ten opzichte van gezonde controlepersonen. Daarnaast werd specifiek aandacht besteed aan de verschillen binnen PDS-subtypen, te weten het constipatie- (IBS-C) en diarree-predominante subtype (IBS-D) en het subtype met een gemengd defecatiepatroon (IBS-M). Een gevalideerde multi-suiker test werd gebruikt om de gastroduodenale, dunne darm-, colon- en de volledige maagdarm-permeabiliteit te onderzoeken in een grote groep PDS-patiënten en in op leeftijd- en geslacht-gematchte gezonde controles. Alle analyses werden gecorrigeerd voor potentiële confounders, zoals demografische en leefstijlfactoren, psychologische symptomen en het gebruik van medicijnen. In deze studie vonden wij dat de dunne darmpermeabiliteit verhoogd was in PDS-patiënten met het diarree-predominante subtype in vergelijking tot gezonde controles. Dit verschil was ook aanwezig na correctie voor mogelijke confounders. De gastro-duodenale permeabiliteit was verhoogd in de totale PDS-populatie en in de diarree- en constipatie-predominante subtypen. Echter, na correctie voor confounders waren deze verschillen niet meer statistisch significant. Voor colon- en volledige maagdarm-permeabiliteit werden geen verschillen gevonden tussen de diverse groepen.
De bevindingen, die we in deze studie gepresenteerd hebben, wijzen op een ander pathofysiologisch mechanisme in PDS-patiënten met het diarree-predominante subtype ten opzichte van de andere PDS subtypen. Tevens laat deze studie zien dat bij het bestuderen van intestinale permeabiliteit, in het bijzonder in een heterogene populatie als de PDS-patiënten, het corrigeren voor mogelijke confounders van groot belang is.

Diverse studies tonen aan dat de samenstelling van de darmflora, ofwel microbiota, anders is bij patiënten met PDS en mogelijk een rol speelt bij het ontstaan van klachten. De aanwezige bacteriën in de darm, maar ook oraal ingenomen bacteriën gaan

interacties aan met de gastheer en hebben o.a. invloed op de functie van het maagdarmkanaal en het immuunsysteem. In **hoofdstuk 3** en **hoofdstuk 4** van dit proefschrift hebben wij de effecten van drie oraal ingenomen *Lactobacillus plantarum* stammen op de intestinale barrièrefunctie en het mucosale en systemische immuunsysteem onderzocht. De drie stammen zijn van oorsprong commensale bacteriën van het maagdarmkanaal. De twee studies werden uitgevoerd in tien gezonde proefpersonen die gedurende testperiodes van zeven dagen elke dag één van de drie stammen innamen. Tevens kregen zij de NSAID indometacine toegediend op voor de testperiodes en op laatste dag van de periodes. NSAID's, die een pijnstillende en ontstekingsremmende werking hebben, worden frequent gebruikt, onder andere door PDS-patiënten. Deze middelen hebben ook een immuunmodulerend en enteropathisch effect. In onze studies werden de NSAID's gebruikt als een stressmodel voor de intestinale mucosa van de gezonde proefpersonen. Zoals ook in eerdere studies aangetoond, leidde de inname van indometacine tot een verhoogde dunne darmpermeabiliteit. Dit effect kon niet tenietgedaan worden door de inname van de *L. plantarum* stammen. Desalniettemin liet de inname van de bacteriële stammen wel een stamafhankelijk effect zien op de gentranscriptie van de intestinale mucosale cellen: de *L. plantarum* TIFN101 bacteriën hadden de meest uitgesproken modulerende eigenschappen. De veranderingen hadden betrekking op de gentranscriptie van reparatieprocessen in het door de NSAID's gecompromitteerd darmweefsel en de opregulatie van genen die geassocieerd zijn met het behoud van de T- en B-celfunctie en antigeenpresentatie. Tevens versterkten deze bacteriën de respons van T geheugencellen tegen het *Staphylococcus aureus* enterotoxin B superantigeen en het tetanus toxine.
In deze twee studies presenteerden wij nieuwe mechanistische inzichten met betrekking tot de interactie van de oraal ingenomen *L. plantarum* stammen met de mens, zoals de dambarrière en de intestinale en systemische immuunactivatie. Van beide mechanismen wordt tevens gedacht dat deze een rol spelen in de pathofysiologie van PDS.

In **hoofdstuk 5** en **hoofdstuk 6** hebben we ons gericht op viscerale hypersensitiviteit, en met name op de verschillen tussen normo- en hypersensitieve PDS-patiënten. Hierbij hebben we zowel gekeken naar klinische kenmerken van deze groepen als verschillen in biologische markers. Viscerale sensitiviteit werd gemeten met behulp van een elektronische barostat, gebruik makend van een rectale opblaasbare ballon. Uit onze studies bleek dat de hypersensitieve PDS-patiënten op veel gebieden vergelijkbaar zijn met de normosensitive groep. Hypersensitieve PDS-patiënten waren wel jonger, vaker vrouw en gebruikten vaker SSRI-medicatie. Echter, een multivariate logistische regressie analyse laat zien dat alleen de jongere leeftijd geassocieerd is met de viscerale hypersensitiviteit bij PDS-patiënten. Er werden geen verschillen met betrekking tot maag-darmklachten, psychologische factoren, kwaliteit van leven, het gebruik van

medicatie behoudens SSRIs, de duur van de klachten (gemeten als tijd sinds diagnose), en leefstijlfactoren. Daarnaast bleken ook de concentraties van verschillende markers, die gerelateerd zijn aan mogelijke onderliggende pathofysiologische mechanismen van PDS, niet te verschillen tussen de normo- en hypersensitieve PDS-patiënten. Deze biomarkers waren calprotectine, humaan β-defensine 2, chromogranine A en korte keten vetzuren gemeten in feces, en plasma citrulline, serotonine en zijn metaboliet 5-hydroxyindoleacetic zuur (5-HIAA).
Samenvattend kan gesteld worden dat de resultaten van deze twee studies tonen dat de demografische en klinische verschillen net als de verschillen in de gemeten biomarker concentraties zeer beperkt zijn tussen normo- en hypersensitieve patiënten. Desalniettemin dient benadrukt te worden dat het gebruik van intestinale provocatie-testen in experimentele studies met deze patiëntenpopulatie in de afgelopen decennia tot unieke kennis heeft geleid wat betreft de mechanismen hoe viscerale pijn wordt geregistreerd en wordt ervaren.

In **hoofdstuk 7** hebben we serotonine (5-HT) en 5-HIAA concentraties gemeten in trombocyten-arm plasma en de ratio van de twee markers onderzocht in PDS-patiënten en gezonde controles. In deze studie werd ook specifiek aandacht besteed aan de PDS-subtypen. Er werden geen verschillen gevonden in 5-HT concentraties tussen de groepen, maar 5-HIAA-waarden bleken significant lager te zijn in PDS-patiënten in vergelijking tot gezonde controles. Eenzelfde resultaat werd gevonden voor de 5-HIAA/5-HT ratio. Beide bevindingen bleven statistisch significant na correctie voor potentiele confounders. Tevens ontdekten we dat de 5-HIAA concentratie en de 5-HIAA/5-HT ratio met name verlaagd waren in PDS-patiënten met het subtype gekenmerkt door een gemengd defecatiepatroon (IBS-M). Geslacht bleek als enige van de onderzochte parameters invloed te hebben op de waarden van de geteste serotoninemarkers in PDS-patiënten, terwijl geen effect werd gezien van maagdarm-klachten, angst en depressieve symptomen, leefstijlfactoren of het gebruik van medicatie.
In deze studie hebben wij laten zien dat weliswaar de serotoninewaarden in plasma van PDS-patiënten, in bloed afgenomen bij alle proefpersonen in nuchtere toestand, niet verschillen ten opzichte van gezonde controles, maar dat er wel verschillen zijn in 5-HIAA en 5-HIAA/5-HT ratio tussen PDS-patiënten en gezonde proefpersonen en dat dit met name kenmerkend was voor het IBS-M subtype. Dit kan erop wijzen dat verstoringen in het serotoninemetabolisme een pathofysiologisch rol spelen in de betreffende patiëntenpopulatie.

PDS is een op symptomen gebaseerde diagnose en symptoomscores worden gebruikt voor follow-up en het kwantificeren van therapie-effecten. Samen met een veranderd defecatiepatroon is buikpijn een belangrijk kenmerk van PDS. Op dit moment bestaat er geen consensus over de beste methode voor het meten van buikpijn bij PDS-patiënten.

In het tweede deel van dit proefschrift richten wij ons op verschillende methodes voor het meten van buikpijn en andere gastrointestinale symptomen. Allereerst evalueerden en vergeleken we in **hoofdstuk 8** in een systematische review, de verschillende methodes die beschikbaar zijn voor het meten van buikpijn bij PDS-patiënten. We hebben geconcludeerd dat er een grote verscheidenheid aan instrumenten wordt gebruikt en dat dit de mogelijkheid beperkt om studieresultaten met elkaar te vergelijken in meta-analyses. Provocatietesten, zoals de rectale barostat, worden frequent gebruikt in studies waarin PDS-patiënten geïncludeerd worden en zijn nuttige instrumenten voor het kwantificeren van een acute respons op een kunstmatig opgewekte intestinale stimulus. De uitkomst van deze methoden correleren echter slecht met de scores van chronische buikpijn in retrospectieve vragenlijsten. Retrospectieve symptoommeting met behulp van papier of elektronische vragenlijsten of dagboeken dragen het risico met zich mee van zogeheten recall- en ecologische bias. Desalniettemin worden de algemene PDS-vragenlijsten, met name de papieren versies, nog zeer frequent gebruikt in studies en zijn ze eenvoudig voor zowel de patiënten als de onderzoekers en zijn ze de best gevalideerde methoden voor het meten van gastro-intestinale symptomen in deze patiëntenpopulatie. Een nadeel is dat deze vragenlijsten zich meestal alleen richten op de intensiteit van de pijn, en geen rekening houden met fluctuaties over de tijd of factoren die pijn beïnvloeden. Een nieuwe methode in dit vakgebied, de 'Experience Sampling Method' (ESM), kan een alternatief zijn en kan de recall- en ecologische bias van retrospectieve vragenlijsten reduceren. Tevens biedt het meer statistische power om verschillen te meten door de repetitieve en momentane symptoommeting die de kern vormt van deze meetmethode. In **hoofdstuk 9** presenteerden wij de resultaten van een pilotstudie waarin we een standaard papieren symptoomdagboek (ingevuld aan het einde van iedere dag), een vragenlijst die ingevuld werd aan het einde van een week (de GSRS) en ESM-scores (ingevuld zes tot tien maal per dag gedurende een week) met elkaar vergeleken hebben. We vonden dat buikpijnscores van de dagboeken hoger waren dan de gemiddelde scores van gemeten met ESM gedurende dezelfde periode. Deze verschillen waren nog meer uitgesproken toen we de ESM-scores vergeleken met de GSRS-scores. De resultaten toonden dat PDS-patiënten geneigd zijn de maximale pijn van de dag of de week onthouden en deze rapporteren in retrospectieve vragenlijsten. Voor flatulentie, misselijkheid en opboeren werden ook hogere scores gevonden in de dagboeken in vergelijking tot ESM, maar deze waren minder uitgesproken in vergelijking tot buikpijn. In deze studie hebben we ook laten zien dat ESM meer inzicht geeft in het verloop van gastrointestinale klachten over de dag bij PDS-patiënten. Deze methode biedt ook de mogelijkheid om potentiele uitlokkende factoren van bijvoorbeeld buikpijn te identificeren en kan hierdoor leiden tot een beter begrip van PDS-symptomatologie.

Daar symptoomscores door diverse (subjectieve) factoren kunnen worden beïnvloed, zouden betrouwbare biomarkers voor PDS een belangrijke bijdrage kunnen leveren in

zowel het diagnostisch als follow-up proces in deze patiëntenpopulatie. In het derde en laatste deel van dit proefschrift richtten wij ons op het identificeren en valideren van nieuwe biomarker sets voor PDS, correlatie met symptoomscores en de mogelijke implicatie van een dergelijke biomarker set in de algemene populatie. Ondanks het feit dat PDS een functionele maagdarmaandoening is, bestaat er steeds meer bewijs voor een reeks van subtiele verschillen in diverse pathofysiologische factoren tussen PDS-patiënten en gezonde controles. Deze associaties bieden de mogelijkheid om multi-domein biomarker sets te ontwikkelen die PDS-patiënten kunnen identificeren met een betere specificiteit en sensitiviteit dan de op dit moment bestaande solitaire biomarkers. Onze hypothese was dan ook dat een biomarkerset alleen dan goede diagnostische waarden zal hebben als deze de multifactoriële en complexe etiologie van PDS representeert. In **hoofdstuk 10** hebben we daarom een reeks fecale en bloedplasma-biomarkers gemeten die allen een relatie hebben tot een bepaald domein van darmgezondheid geassocieerd met PDS. Hiervoor hebben we gebruik gemaakt van twee grote cohorten, namelijk een klinische PDS-cohort met leeftijd- en geslacht-gematchte gezonde controles zonder maagdarmklachten, alsook een algemene populatie-cohort (Lifelines DEEP). Dit heeft geleid tot de identificatie van een biomarker set van 8 markers, bestaande uit IL-1β, IL-6, IL12p70, TNF-α, chromogranine A, humaan β-defensine 2, calprotectine en het korte keten vetzuur caproaat. Deze biomarker set had een sensitiviteit van 88% en specificiteit van 87% voor de discriminatie van PDS-patiënten versus gezonde controles. Vergelijkbare resultaten werden gevonden voor alle PDS-subtypen. Daarnaast bleek de biomarker set goed te correleren met verschillende symptoomscores in zowel het PDS-cohort alsook het algemene populatie-cohort.

In **hoofdstuk 11** hebben we gekozen voor een holistische benadering. We hebben alle vluchtige organische stoffen (VOC's) gemeten in uitademingslucht van proefpersonen uit de bovengenoemde twee cohorten. Een set van 16 VOC's bleek het beste onderscheid te kunnen maken tussen PDS-patiënten en de gezonde controles met een specificiteit van 89% en sensitiviteit van 73%. Ook in deze studie correleerde deze nieuwe biomarker-set goed met de ernst van gastrointestinale symptomen binnen de twee cohorten.

Uiteraard is verder onderzoek en validatie nodig, maar de huidige bevindingen van deze twee studies zijn belangrijke stappen in de richting van een op biomarkers gebaseerde diagnose en follow-up van PDS.

Tot slot gaven wij in **hoofdstuk 12** een overzicht van de belangrijkste bevindingen in dit proefschrift, werden de verschillende concepten geïntegreerd en voortbordurend op de resultaten in dit proefschrift, presenteerden we nieuwe hypotheses voor vervolg-onderzoek op het gebied van PDS.