



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Effects of inhaled corticosteroids on clinical and pathological outcomes in COPD - Insights from the GLUCOLD study

Kunz, L.I.Z.

### Citation

Kunz, L. I. Z. (2016, November 30). *Effects of inhaled corticosteroids on clinical and pathological outcomes in COPD - Insights from the GLUCOLD study*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/44522>

Version: Not Applicable (or Unknown)

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/44522>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/44522> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Kunz, L.I.Z.

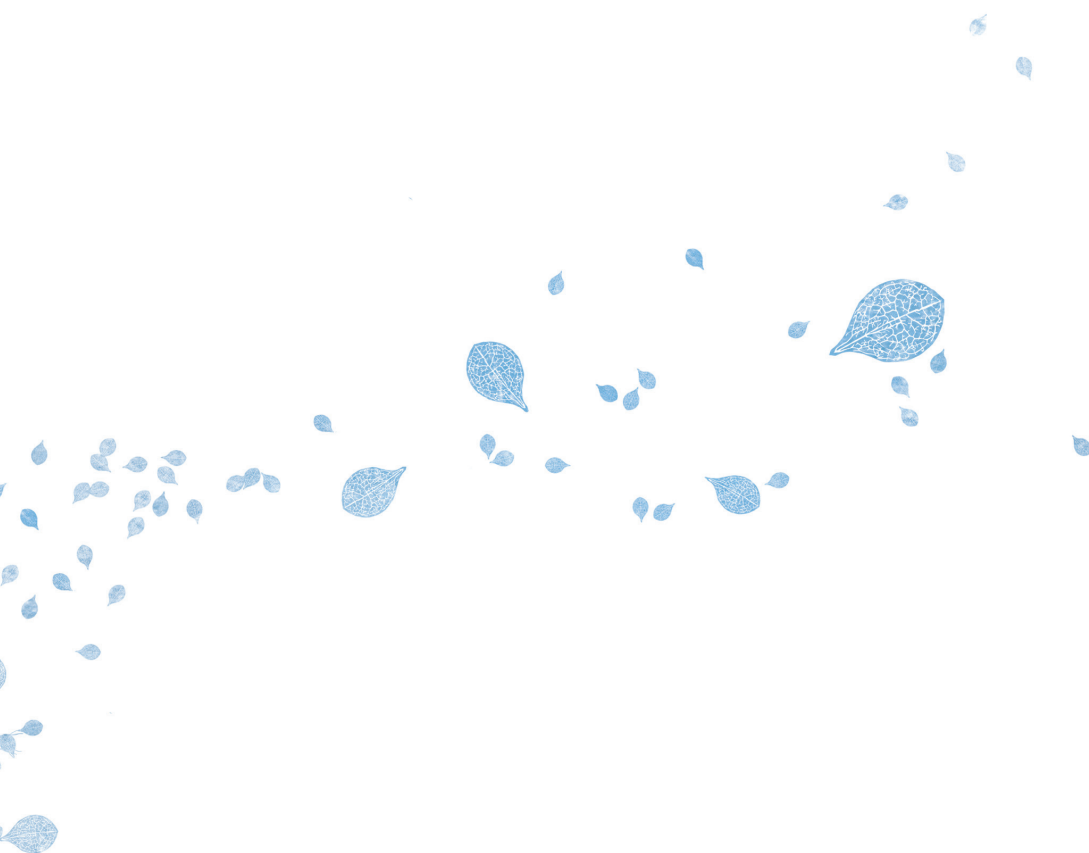
**Title:** Effects of inhaled corticosteroids on clinical and pathological outcomes in COPD - Insights from the GLUCOLD study

**Issue Date:** 2016-11-30

# CHAPTER 8



# Nederlandse samenvatting



In dit proefschrift staan de effecten van sigarettenrook op ontstekingscellen (en in het bijzonder: macrofagen) en de behandeling met geïnhalerde ontstekingsremmers (inhalatiecorticosteroiden) bij patiënten met chronische obstructieve longziekte (COPD) centraal. In het eerste deel van deze samenvatting wordt deze ziekte, de achtergrond en de behandeling besproken; in het tweede deel van deze samenvatting wordt ingegaan op de resultaten die in dit proefschrift zijn beschreven.

## **COPD**

COPD is een acroniem voor de Engelse term 'Chronic Obstructive Pulmonary Disease' en is een langdurige en blijvende ziekte. Vooral vroeger werd COPD ook wel chronische bronchitis en emfyseem genoemd, hoewel vooral de term emfyseem nog regelmatig wordt gehanteerd. Patiënten met deze aandoening hebben in toenemende mate last van bijvoorbeeld kortademigheid in rust en bij inspanning, hoesten, opgeven van slijm (sputum) en reageren op bepaalde prikkels, zoals weersveranderingen of rook. De ene patiënt heeft meer of andere klachten dan de andere patiënt. Een fase waarin er een toename is van de klachten, wordt een longaanval of exacerbatie genoemd en wordt vaak uitgelokt door een luchtweginfectie. COPD wordt gekenmerkt door een versnelde achteruitgang van de longfunctie. Volgens het Rijksinstituut voor de Volksgezondheid en Milieu (RIVM) waren er in 2011 in ons land meer dan 350.000 mensen die lijden aan COPD en het is momenteel de derde doodsoorzaak wereldwijd.

## **Risicofactoren voor COPD**

De belangrijkste risicofactor voor het ontwikkelen van COPD is het roken van sigaretten. Langer roken en meer sigaretten per dag leidt tot een hogere kans op het ontwikkelen van COPD. Ongeveer 10-20% van alle rokers ontwikkelt COPD; omgekeerd heeft 90% van alle COPD patiënten gerookt. Een belangrijke vraag is waarom sommige rokers wel COPD ontwikkelen, en anderen niet. Dit heeft te maken met een complex geheel van erfelijke factoren, in combinatie met omgevingsfactoren waar het lichaam aan wordt blootgesteld. Daarnaast kan meer roken, luchtverontreiniging en beroepsmatige blootstelling aan bepaalde stoffen, het risico op het krijgen van COPD verhogen.

## Heterogeniteit van COPD

Hoewel COPD nu onder één noemer valt, zijn er veel verschillen tussen patiënten. Dat komt doordat COPD een heterogene ziekte is, wat inhoudt dat onder andere door de hoeveelheid roken, lichaamsgewicht, aantal exacerbaties, inspanningsbeperking en psychische status er verschillende subgroepen van patiënten zijn. Daarnaast zijn er ook inwendige verschillen, zoals afwijkingen in de luchtwegen, verhoogde vatbaarheid voor infecties en veranderde cellulaire afweer die er voor zorgen dat het beloop van COPD zich op verschillende manieren kan presenteren. Deze heterogeniteit impliceert dat subgroepen van COPD patiënten gerichter behandeld zouden moeten worden.

## De longen en luchtwegen bij COPD

### Longfunctie

Vanaf de leeftijd van ongeveer 20-25 jaar gaat bij iedereen jaarlijks de longfunctie achteruit met zo'n 25-30ml. Patiënten met COPD hebben met 60ml per jaar een versnelde achteruitgang van de longfunctie. Rokende COPD patiënten hebben een snellere achteruitgang van de longfunctie ten opzichte van ex-rokers met COPD; het 'stoppen met roken'-advies is daarom voor elk stadium van COPD relevant. Longfunctiemetingen, waarbij de hoeveelheid uitgeademde lucht wordt gemeten, zijn cruciaal voor het stellen van de diagnose COPD. Door luchtwegvernauwing, ook wel (luchtweg)obstructie genoemd, ontstaat een vermindering in de geforceerde hoeveelheid uitgeademde lucht, gemeten met de één-seconde-waarde (de maximale hoeveelheid lucht die in één seconde kan worden uitgeblazen, FEV<sub>1</sub>). Als er luchtwegobstructie bestaat, is het uitademen van lucht bemoeilijkt door een verhoogde luchtwegweerstand, vergelijkbaar met het effect van het uitademen door een rietje. De hoogte van de FEV<sub>1</sub> is een maat voor de ernst van de luchtwegobstructie en kan geclassificeerd worden in mild (GOLD klasse 1), matig (GOLD 2), ernstig (GOLD 3) of zeer ernstig (GOLD 4). Hierbij staat GOLD voor de internationale consensus op het gebied van COPD. Omdat alleen de uitademing moeilijker gaat, maar de inademing niet, kan bij ernstig COPD lucht in de longen achterblijven na volledige uitademing, vergelijkbaar met de lucht in een fietsband (lucht kan er wel in, maar via het ventiel niet eruit). Dit wordt hyperinflatie genoemd.

Door het roken ontstaat schade aan de longblaasjes, ook wel de alveoli genoemd, waar de gaswisseling van zuurstof (O<sub>2</sub>) en koolzuur (CO<sub>2</sub>) plaatsvindt. De ernst van deze schade kan gemeten worden met de diffusiecapaciteit. Patiënten met COPD kunnen meer last krijgen

van kortademigheid als zij in contact komen met bepaalde prikkels, zoals vochtig weer, bepaalde geuren of sigarettenrook. Dit wordt hyperreactiviteit van de luchtwegen genoemd. Een methacholine provocatietest kan gebruikt worden om te meten in welke mate de luchtwegen gevoelig zijn voor prikkels.

## Luchtwegontsteking

Door de blootstelling aan sigarettenrook ontstaat er een chronische ontstekingsreactie in de luchtwegen. Welk component of welke componenten van de sigarettenrook daar verantwoordelijk voor zijn is tot nu toe onbekend, aangezien er circa 5000 verschillende stoffen in sigarettenrook zitten. De rook komt in eerste instantie in contact met de luchtwegwand (epitheelcellen) en het aangeboren, niet-specifieke afweersysteem. De rook zorgt ervoor dat er een cascade van reacties op gang komt, waarbij verschillende ontstekingscellen betrokken zijn, zoals macrofagen, CD8<sup>+</sup> T-cellen en neutrofiële granulocyten, onder invloed van bepaalde stoffen, zoals chemokines en cytokines, worden aangetrokken worden vanuit het bloed naar de longen met als doel om de schadelijke effecten tegen te gaan. De cellen raken 'geactiveerd' door contact met rook, waardoor de cytokines en chemokines vrijkomen, en kunnen bijdragen aan schade aan de luchtwegen en alveoli. Hoewel het stoppen met roken de achteruitgang van de longfunctie vermindert, blijkt uit onderzoek dat het stoppen met roken de luchtwegontsteking maar ten delen vermindert.

## Macrofagen

Macrofagen zijn afweercellen van het aangeboren immuunsysteem die een belangrijke rol spelen bij chronische ontstekingsprocessen, zoals bij COPD. Hoewel er meer macrofagen aanwezig zijn in de longen van COPD patiënten ten opzichte van gezonde controle personen, werken deze cellen minder effectief in het opruimen van bacteriën (fagocytose). Macrofagen blijken uit meerdere subtypen (fenotypes) te bestaan, die zowel in *in vitro* (buiten het lichaam) als *in vivo* (in het lichaam) gemakkelijk in elkaar kunnen overgaan (plasticiteit). Een simpele variant van deze subtypen zijn MΦ1 en MΦ2 macrofagen (ook wel Mf1 en Mf2): MΦ1 hebben eigenschappen die het ontstekingsproces bevorderen (pro-inflammatoir), zoals het afscheiden van cytokines die passen bij ontstekingen. MΦ2 cellen werken juist de ontsteking tegen (anti-inflammatoir), o.a. door het afscheiden van cytokines die ontsteking remmen. Er zijn aanwijzingen dat er bij COPD 'mengvormen' van macrofagen bestaan. Dit proefschrift

beschrijft de effecten van sigarettenrook op de macrofagen fenotypes bij patiënten met COPD. Tevens wordt een nieuwe marker voor MΦ1, namelijk YKL-40, onderzocht voor het gebruik bij *in vitro* gekweekte macrofagen en in serum en sputum van patiënten met COPD na behandeling met ontstekingsremmers.

## Remodellering van de luchtwegen

De extracellulaire matrix (ECM) is een driedimensionale structuur die als het ware het skelet van de longen vormt. Deze matrix bestaat uit drie belangrijke componenten, namelijk elastine, proteoglycanen en collagenen. Door de langdurige blootstelling aan omgevingsfactoren, zoals sigarettenrook, gaan de luchtwegen zich aanpassen, een proces dat 'remodellering' wordt genoemd. Deze remodellering vindt op meerdere plekken in de longen plaats, zowel in de grote en kleine luchtwegen als in het longweefsel. De eerste plek waar de schade door de geïnhaleerde rook ontstaat, is bij de epitheelcellen, de binnenbekleding van de luchtwegen. Door de rook raken de trilhaartjes, die bovenop de epitheelcellen zitten beschadigd, waardoor ze het slijm dat in de luchtwegen zit niet meer goed richting de keel kunnen verplaatsen. Door langdurige blootstelling aan rook ontstaan er epitheelcellen met een andere vorm zonder trilharen (ook wel metaplasie genoemd). Daarbij ontstaan door sigarettenrook meer cellen die slijm produceren (goblet cel hyperplasie). Deze twee mechanismen geven onder andere de typische rokershoest bij patiënten met COPD. Het relatieve 'stilstaan' van het sputum zorgt voor een toename in vatbaarheid voor luchtweginfecties. Daarnaast zorgt de rook voor een verdikking van het basale membraan, die laag die onder de epitheelcellaag ligt. Ook worden er stoffen afgescheiden die de luchtwegen dikker maken, wat kan bijdragen aan de luchtwegvernauwing. Tenslotte lopen de alveoli ook schade op door de sigarettenrook en ontstaat er emfyseem. De door sigarettenrook opgewekte ontstekingsreactie is de drijvende kracht voor de remodellering. Dit proefschrift beschrijft de effecten van sigarettenrook en geïnhaleerde ontstekingsremmers op de componenten van de ECM in de grote luchtwegen van patiënten met COPD.

## Behandeling van COPD

Tot nu is er geen behandeling die COPD kan genezen. De behandeling is er daarom op gericht om de klachten van kortademigheid en sputumvorming zo goed mogelijk te onderdrukken. Dit kan op twee manieren: een niet-medicamenteuze en een



medicamenteuze behandeling. Het belangrijkste niet-medicamenteuze advies aan rokende COPD patiënten is het stoppen met roken. Dit heeft positieve effecten op de klachten, de achteruitgang van de longfunctie en het aantal exacerbaties. Dit is voor veel patiënten een uitdaging en voor velen erg lastig, waarbij rokers die gestopt zijn vaak opnieuw gaan roken. Roken moet daarom ook worden gezien als chronische ziekte.

De medicamenteuze ingeademde behandeling (inhalatiemedicatie) heeft twee belangrijke pijlers: de luchtwegverwijders en de inhalatiecorticosteroiden. De luchtwegverwijders geven op diverse manieren verslapping van de gladde spiercellen rondom de luchtwegen en zijn de eerste stap in de behandeling van COPD. Ze zijn in kort- en langwerkende varianten beschikbaar en geven verlichting van de benauwdheid. Inhalatiecorticosteroiden zijn ontstekingsremmers (ook wel ICS genoemd) en kunnen de ontsteking in de luchtwegen remmen door hun lokale werking. ICS hebben dezelfde werkzaamheid als Predniso(lo)n, maar worden in een veel lagere dosering, lokaal en via inhalatie toegediend. ICS worden afgebroken in de maag, waardoor de concentratie steroïden in de bloedbaan erg laag is. Bijwerkingen van ICS zijn onder andere een schimmelinfectie in de mond en keel en heesheid. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat ICS bij enkele patiënten ook een longontsteking kan veroorzaken. In de huidige richtlijnen worden ICS geadviseerd (in combinatie met of zonder luchtwegverwijders) bij patiënten met ernstig of zeer ernstig COPD (GOLD 3-4) met veel klachten en meer dan twee exacerbaties per jaar. Eerder onderzoek heeft laten zien dat ICS verbetering geeft van de klachten en van het aantal exacerbaties per jaar. Tot nu toe zijn er wisselende resultaten van ICS gezien op de achteruitgang van de longfunctie. Het GLUCOLD-onderzoek heeft dit ook onderzocht en vond juist dat 30 maanden behandeling met de ICS fluticason met of zonder luchtwegverwijder (salmeterol) een verminderde afname van de longfunctie geeft in combinatie met een vermindering van de ontstekingscellen in de luchtwegen, en betere kwaliteit van leven.

## Stoppen met ICS

In de dagelijkse praktijk worden ICS vaak voorgeschreven aan patiënten met COPD, ook als zij weinig klachten of minder dan twee exacerbaties per jaar hebben. Slechts een derde van de patiënten gebruikt hun medicatie dagelijks en regelmatig worden deze medicijnen slechts een paar maanden gebruikt. Tot nu toe is maar weinig onderzoek gedaan naar de effecten van het stoppen van ICS. Enkele onderzoeken vonden een toename in het aantal exacerbaties na het stoppen van ICS. Ook is het effect op de longfunctie na langdurig

stoppen van ICS nog niet goed in kaart gebracht. Dit proefschrift heeft de effecten van het langdurig stoppen van ICS onderzocht op de longfunctie en de ontstekingscellen in de luchtwegen na eerdere langdurige behandeling.

## Proefschrift

In dit proefschrift zijn de resultaten beschreven van onderzoek naar de effecten van roken en ICS op luchtwegontsteking (met nadruk op macrofagen) en de mate van remodellering van de luchtwegen. Daarnaast is onderzoek gedaan naar de effecten van stoppen van ICS op de longfunctie en luchtwegontsteking bij patiënten met COPD. Voor het onderzoek is gebruik gemaakt van de gegevens van de eerder verrichtte GLUCOLD\* studie, en is ook aanvullend onderzoek gedaan bij de patiënten die de GLUCOLD studie hadden afgerond: de GLUCOLD vervolgstudie (ook wel GLUCOLD2 studie). Deze studie werd uitgevoerd in het Leids Universitair Medisch Centrum te Leiden en het Universitair Medisch Centrum Groningen te Groningen.

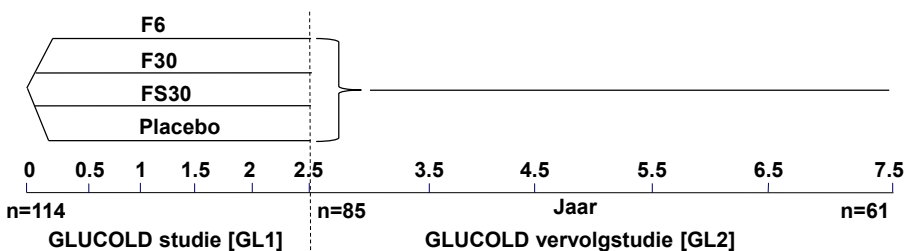
\* Groningen and Leiden Universities Corticosteroids in Obstructive Lung Disease

De onderzoeksdoelen van het huidige proefschrift zijn:

1. Is er een verschil in het fenotype van macrofagen in sputum en bronchoalveolaire lavage (BAL, longspoeling) tussen rokende en ex-rokende COPD patiënten?
2. Wat is het effect van ontstekingsremmers op de M $\Phi$ 1 marker YKL-40 bij *in vitro* (in het laboratorium gekweekte) pro-inflammatoire macrofagen, en in bloed en sputum van COPD patiënten *in vivo*?
3. Ontstaat er verandering in de structuur van de luchtwegwand (remodellering) na roken en na langdurig gebruik van ICS bij COPD?
4. Wat is het effect van langdurig stoppen van ICS op de achteruitgang van de longfunctie en mate van luchtwegontsteking na eerder langdurige behandeling (2,5 jaar) bij patiënten met COPD?

Voor de GLUCOLD studie zijn 114 mensen met matig tot ernstig COPD (longfunctie tussen 20 en 80% van voorspelde waarde) onderzocht, zowel rokende als niet-rokende mensen in de leeftijd tussen 45 en 75 jaar. Deze vrijwilligers mochten geen astma hebben (gehad). Bij aanvang van het eerste deel van de studie werden ze uitgebreid onderzocht op symptomen, longfunctie, hyperreactiviteit en luchtwegontsteking in sputum. Tevens werd een kijkonderzoek in de longen (bronchoscopie) verricht, waarbij een BAL en luchtwegweefsel (biopten) werden verkregen. Hierna werden patiënten door middel van loting in 4 behandelgroepen verdeeld (Figuur 1), 6 of 30 maanden behandeling met geïnhalede ontstekingsremmers met en zonder luchtwegverwijder of placebo (nepmedicijn), waarbij de behandeling voor zowel de onderzoekers als de deelnemers onbekend was. Elke 3 maanden werd de longfunctie en kwaliteit van leven gemeten, en na 6 en 30 maanden werd opnieuw de luchtwegontsteking onderzocht (sputum, BAL, biopten). Na 30 maanden behandeling hadden 85 mensen het eerste deel van de studie doorlopen. De uitkomsten van de GLUCOLD studie (GL1) zijn eerder gepubliceerd door Thérèse Lapperre en Jiska Snoeck-Stroband.

Tijdens het tweede gedeelte van de GLUCOLD studie (vervolgstudie, GL2) werd de longfunctie en kwaliteit van leven jaarlijks gemeten. Hyperreactiviteit en sputum werd onderzocht na 2 en 5 jaar; biopten werden na 5 jaar opnieuw verkregen. De totale studieduur komt hiermee op 7,5 jaar. Tijdens de laatste 5 jaar werden de patiënten behandeld door hun eigen longarts of huisarts volgens de laatste richtlijnen. In de praktijk betekende dit dat het merendeel van de deelnemers van de studie geen of weinig ontstekingsremmers gebruikten tijdens GL2. Uiteindelijk hebben 61 patiënten de totale studie afgerond.



**Figuur 1:** Studie opzet tijdens eerste (GL1) en tweede (vervolg, GL2) deel van de GLUCOLD studie.

## Macrofaagheterogeniteit bij COPD

### *Hoofdstuk 2: Anti-inflammatoire macrofagen in sputum en BAL van rokende en ex-rokende COPD patiënten.*

Macrofagen spelen als afweercellen een belangrijke rol bij de ontwikkeling van COPD. Macrofagen vormen een heterogene populatie met M $\Phi$ 1 (pro-) en M $\Phi$ 2 (anti-inflammatoire) cellen. Eenmaal gedifferentieerde macrofagen blijven de mogelijkheid behouden tot verandering van fenotype. Dit houdt in dat als macrofagen in aanraken komen met een inflammatoire prikkel, de M $\Phi$ 2 cel kan veranderen in een M $\Phi$ 1 cel, en andersom. Er wordt aangenomen dat in de grote luchtwegen, die als eerste in aanraking komen met onder andere bacteriën en omgevingsfactoren, meer M $\Phi$ 1 cellen aanwezig zijn. In de kleinere luchtwegen en alveoli zijn juist meer M $\Phi$ 2 cellen aanwezig om de gaswisseling goed te laten verlopen. In dit hoofdstuk is het effect van roken op de anti-inflammatoire macrofagen onderzocht. Hiervoor hebben we de M $\Phi$ 2 marker CD163 gebruikt naast bepaalde pro-inflammatoire (interleukine 6 en 8) en anti-inflammatoire eiwitten (elafine en Secretory Leukocyte Protease Inhibitor [SLPI]), die aanwezig zijn in BAL en opgewerkt sputum van rokende COPD patiënten en COPD patiënten die gestopt zijn met roken. De belangrijkste resultaten van dit onderzoek zijn:

- Ex-rokers met COPD hebben een hoger percentage van CD163-positieve macrofagen en een groter totaal aantal cellen, maar een kleiner aantal in BAL ten opzichte van rokende COPD patiënten.
- Het percentage CD163-positieve M $\Phi$ 2 macrofagen is hoger in BAL dan in sputum.
- Er is geen verschil tussen rokers en ex-rokers met COPD in de concentratie pro- en anti-inflammatoire eiwitten aanwezig in BAL en sputum.

Deze resultaten suggereren dat stoppen met roken het fenotype van macrofagen gedeeltelijk kan veranderen naar een anti-inflammatoire type in de longen van COPD patiënten. Dit gaat niet gepaard met een verandering in aantal neutrofielen, ontstekingsbevorderende of ontstekingsremmende eiwitten in het sputum of BAL. Tevens laten deze resultaten zien dat in de diepere luchtwegen meer M $\Phi$ 2 cellen aanwezig zijn bij COPD patiënten.

### *Hoofdstuk 3: Effect van ontstekingsremmers op YKL-40 op pro-inflammatoire macrofagen*

M $\Phi$ 1 en M $\Phi$ 2 macrofagen worden met verschillende markers gekarakteriseerd. In Hoofdstuk 2 werd CD163 beschreven als een marker voor M $\Phi$ 2 cellen, in hoofdstuk 3 wordt de nieuwe, potentiële marker YKL-40 beschreven als marker voor M $\Phi$ 1 cellen. YKL-40 is een chitinase-achtig eiwit dat onder andere door macrofagen en andere celtypes wordt afgescheiden en is geassocieerd met verschillende ontstekingsziekten, waaronder astma en COPD. Eerder onderzoek heeft laten zien dat YKL-40 sterk wordt onderdrukt door dexamethason (een sterke ontstekingsremmer), waardoor de indruk bestaat dat YKL-40 voornamelijk op M $\Phi$ 1 cellen zit. In ons laboratorium hebben we dit verder onderzocht door monocyten (voorlopers van macrofagen) uit bloed te isoleren, *in vitro* te kweken in het laboratorium tot M $\Phi$ 1 en M $\Phi$ 2 cellen en deze vervolgens te stimuleren met stoffen die ontsteking opwekken. Tenslotte werden de cellen behandeld met dexamethason. Verder is onderzocht welk fenotype van gekweekte macrofagen het meest boodschapper RNA (mRNA) tot uiting brengt en YKL-40 eiwit uitscheidt. Ook is het effect van dexamethason op de fenotypen van macrofagen bestudeerd. Als laatste is het effect van ICS op YKL-40 in bloed en sputum van patiënten met COPD onderzocht. De bevindingen van dit onderzoek zijn als volgt:

- Gekweekte M $\Phi$ 1 cellen maken meer YKL-40 mRNA en scheiden meer YKL-40 eiwit uit ten opzichte van M $\Phi$ 2 cellen, onafhankelijk van de stimulatie van de cellen.
- Dexamethason remt dosis-afhankelijk YKL-40 mRNA expressie en eiwit uitscheiding in M $\Phi$ 1 cellen.
- Hogere eiwitconcentraties YKL-40 wordt gevonden in bloed vergeleken met sputum van patiënten met COPD.
- Behandeling met ICS verandert de hoeveelheid YKL-40 eiwit in sputum en bloed van patiënten met COPD niet na 30 maanden behandeling met ICS.

Deze resultaten suggereren dat YKL-40 een geschikte marker is voor *in vitro* gekweekte M $\Phi$ 1 cellen, maar niet gebruikt kan worden om het effect van ICS behandeling te meten in serum en sputum van patiënten met COPD. Een mogelijke verklaring hiervoor kan zijn dat M $\Phi$ 1 cellen een specifieke stimulatie nodig hebben, die toegediend kan worden bij *in vitro* gekweekte macrofagen, maar die niet aanwezig is in het bloed of luchtwegen van patiënten met COPD.

## Ontstekingsremmers en luchtwegwand remodelering

### *Hoofdstuk 4: Effect van roken en ontstekingsremmers op de samenstelling van extracellulaire matrix (ECM) in de luchtwegwand van COPD patiënten.*

Het weefsel rondom de luchtwegen is een driedimensionale structuur, die ook wel de extracellulaire matrix (ECM) wordt genoemd. Deze bestaat onder andere uit elastische vezels, proteoglycanen en collagenen. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat langdurig roken onomkeerbare schade veroorzaakt aan de elastische vezels in de alveoli. Dit suggereert dat er door sigarettenrook ook veranderingen kunnen ontstaan in de structuur en componenten van de wand van de kleine en grote luchtwegen, een proces dat bijdraagt aan de luchtwegvernauwing. In dit hoofdstuk is onderzocht wat de effecten zijn van roken en ICS op verschillende componenten van de ECM in de grote luchtwegen, namelijk elastische vezels, proteoglycanen (versican en decorine) en collagenen (collageen I en III). De uitkomsten van dit onderzoek zijn:

- (Stoppen met) roken heeft geen effect op de diverse componenten van de ECM in de grote luchtwegen van COPD.
- Langdurig behandelen met ICS geeft een toename van versican en collageen III in de grote luchtwegen.
- Er is een relatie tussen de hoeveelheid collageen I en de longfunctie na langdurige behandeling met ICS.

Bovenstaande resultaten suggereren dat de samenstelling van de luchtwegwand verandert in patiënten met COPD na langdurige behandeling met ICS. Deze remodelering van de luchtwegen, kan er mogelijk voor zorgen dat ze stugger en stijver worden en voorkomen het samenvallen van de luchtwegen bij de ademhaling.

## Effect van stoppen met ICS op longfunctie en luchtwegontsteking

*Hoofdstuk 5: Langdurig stoppen met ICS na 2,5 jaar behandeling veroorzaakt versnelde achteruitgang in longfunctie bij patiënten met COPD.*

Het GLUCOLD onderzoek heeft eerder laten zien dan 2,5 jaar behandeling met ICS een verminderde achteruitgang van de longfunctie geeft, verminderde luchtweghyperreactiviteit en betere kwaliteit van leven. In de dagelijkse praktijk gebruiken veel patiënten de onstekingsremmers echter kortdurend of onregelmatig. Tot nu toe zijn de effecten van stoppen met ICS onvoldoende onderzocht. Dit is belangrijk om te weten, omdat ICS mogelijk ook de onderliggende mechanismen van COPD zou kunnen veranderen (ziekte modificatie). In dit hoofdstuk hebben we onderzocht wat de effecten zijn van langdurig stoppen (vijf jaar) van de ICS na eerder 2,5 jaar behandeling. Hiervoor zijn de patiënten van het eerste deel van het onderzoek gevraagd om mee te doen aan het vervolgonderzoek. Patiënten zijn behandeld door hun eigen longarts of huisarts. Het merendeel van de patiënten gebruikte geen of onregelmatig ontstekingsremmers. Jaarlijks werd de longfunctie en kwaliteit van leven gemeten evenals de hyperreactiviteit van de luchtwegen. De belangrijkste resultaten van dit onderzoek zijn:

- Langdurig stoppen met ICS leidt tot een versnelde jaarlijkse achteruitgang van de longfunctie ten opzichte van de periode dat wel ICS worden gebruikt.
- Patiënten die langdurig gestopt zijn met ICS hebben een toename in luchtweghyperreactiviteit ten opzichte van de periode dat ze wel ICS gebruikten.
- Langdurig stoppen van ICS geeft enige achteruitgang van de kwaliteit van leven ten opzichte van de periode dat de patiënten werden behandeld met ICS.

Bovenstaande resultaten suggereren dat actief gebruik van ICS alleen een positief effect heeft op de longfunctie, kwaliteit van leven en mate van luchtweghyperreactiviteit tijdens actief gebruik van de ICS, maar dat bij langdurig staken ervan deze effecten weer verdwijnen. Er lijken dus door ICS behandeling geen langdurige en blijvende veranderingen in het ziekteproces (geen ziektemodificatie) op te treden die persisteren na het stoppen met ICS. Patiënten met matig tot ernstig COPD is een aparte groep van patiënten, die de snelste achteruitgang van de longfunctie hebben. Juist daardoor valt er in deze groep de meeste winst op de longfunctie te behalen met de behandeling met ICS. Toch dient de conclusie van het onderzoek voorzichtig te worden geïnterpreteerd: het onderzoek heeft immers niet laten

zien dat COPD patiënten moeten doorgaan met de langdurige behandeling met ICS. Dit was ook niet het doel van het huidige onderzoek en zal verder onderzocht moeten worden in toekomstige onderzoeken.

### *Hoofdstuk 6: Langdurig stoppen met ICS na 2,5 jaar behandeling leidt tot toename van luchtweg ontsteking bij patiënten met COPD.*

Het GLUCOLD onderzoek heeft eerder laten zien dat 2,5 jaar behandeling met ICS zorgt voor een afname van het aantal CD3-, CD4-, en CD8-positieve cellen en mestcellen. Tevens werd een afname gevonden in het aantal neutrofielen, macrofagen en lymfocyten in het sputum. Wederom is tot nu toe onbekend wat de effecten zijn van het langdurig stoppen van de behandeling met ICS op het aantal ontstekingscellen in de luchtwegen. De patiënten die in Hoofdstuk 5 werden genoemd, werd gevraagd of zij ook sputum wilden inleveren (na 2 en 5 jaar vervolgonderzoek) en een kijkonderzoek weefselstukjes (biopten) uit de luchtwegwand wilden ondergaan (na 5 jaar vervolgonderzoek). De belangrijkste bevindingen van dit onderzoek zijn:

- Vijf jaar stoppen met ICS na eerdere 2,5 jaar behandeling geeft een toename van het aantal CD3, CD4, en CD8 positieve cellen en mestcellen in biopten.
- Langdurig stoppen met ICS geeft een toename van het totaal aantal cellen in sputum, en het aantal macrofagen, neutrofielen en lymfocyten in sputum.
- Er is een relatie tussen een versnelde afname van longfunctie en toename van aantal sputum macrofagen en luchtweg neutrofielen.

Deze resultaten laten zien dat ICS de luchtwegontsteking onderdrukken zolang deze inhalatiemedicatie wordt gebruikt. Wederom is er geen aanhoudende ziekte aanpassing door langdurig gebruik van ICS.



## Perspectief voor toekomstig onderzoek

De onderzoeken zoals beschreven in dit proefschrift hebben bijgedragen aan de kennis over macrofagen fenotypes, luchtweg remodelling en lange termijn effecten van stoppen met de behandeling met ICS. Uiteraard zijn dit slechts puzzelstukjes van de grote puzzel over ontsteking in de longen van COPD patiënten en de behandeling daarvan. De hier beschreven onderzoeken roepen daarom ook nieuwe vragen op, die in toekomstig onderzoek nader uitgezocht dienen te worden.

- Wat is het effect van ICS op CD163 (of andere M $\Phi$ 2 markers) en YKL-40 (of andere M $\Phi$ 1 markers) positieve macrofagen in grote en kleine luchtwegen van patiënten met COPD?
- Zijn andere pro- en anti-inflammatoire macrofagen markers wellicht geschikter om het effect van ontstekingsremmers te monitoren?
- Wat zijn de effecten van ICS op de remodelling van de kleine luchtwegen en alveoli bij COPD?
- Welke groepen van COPD patiënten hebben het meeste baat bij de behandeling met geïnhalede ontstekingsremmers? Kunnen bepaalde (epi)genetische profielen of gen expressie profielen herkend worden die reactie op ontstekingsremmers kunnen voorspellen?
- Blijven de positieve effecten op longfunctie, ontsteking en kwaliteit van leven aanhouden bij zeer langdurige (>2,5 jaar) behandeling met ICS?
- Zijn er andere potentiële ontstekingsremmende medicijnen beschikbaar om de progressie van COPD te verminderen? Zijn ICS met fijnere deeltjes meer geschikt om de luchtwegontsteking bij COPD te behandelen?

