



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The fetal origin of adult atherosclerosis : a study in ApoE and Ldlr mouse models

Alkemade, F.E.

Citation

Alkemade, F. E. (2009, April 15). *The fetal origin of adult atherosclerosis : a study in ApoE and Ldlr mouse models*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/13727>

Version: Corrected 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/1887/13727>

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

Samenvatting

Samenvatting

In dit proefschrift zijn de consequenties van een nadelige intrauteriene omgeving, gecreëerd door maternale apoE-deficiëntie of Ldlr-deficiëntie tijdens zwangerschap, op de gevoeligheid voor aderverkalking in de volwassen nakomelingen bestudeerd. Tevens zijn de epigenetische mechanismen die ten grondslag liggen aan de verworven gevoeligheid voor hart- en vaatziekten onderzocht.

In **Hoofdstuk 1** wordt algemene informatie gegeven over hart- en vaatziekten en de belangrijkste risicofactoren voor aderverkalking. Daarnaast wordt de mogelijke foetale oorsprong van hart- en vaatziekten en de rol van epigenetische programmering in dit proces beschreven.

In **Hoofdstuk 2** zijn de effecten van maternale apoE-deficiëntie tijdens zwangerschap in muizen, dat gekenmerkt wordt door hoog cholesterol, hoge oxidatieve stress niveaus en toegenomen ontsteking, op foetale bloedvatontwikkeling en het risico op hart- en vaatziekten in volwassen apoE^{+/-} nakomelingen bestudeerd. Tijdens de laat foetale ontwikkeling werd een kleine, maar significante verhoging in het plasma cholesterol niveau gevonden in apoE^{+/-} foetussen van apoE^{-/-} moeders in vergelijking met apoE^{+/-} foetussen van wildtype moeders. Bovendien lieten morfologische en morfometrische analyses ernstige schade aan de vaatwand zien, gekarakteriseerd door een significante toename van verlies van endotheelcel volume in de halsslagaders van de foetussen van apoE^{-/-} moeders. Na de geboorte is de schade aan de endotheelcellaag hersteld en werd geen aderverkalking gevonden. De apoE^{+/-} nakomelingen kregen een dieet dat cholesterol bevatte om het cholesterolniveau in het bloed te verhogen. Op een leeftijd van 16 weken werd een kokertje rondom de linker halsslagader van volwassen apoE^{+/-} nakomelingen geplaatst. Het kokertje vernauwt het bloedvat gedeeltelijk waardoor neointima vorming wordt opgewekt. Cuff-plaatsing in apoE^{+/-} nakomelingen van apoE^{-/-} moeders resulteerde in ernstige neointimavorming in 9 van de 10 nakomelingen. In apoE^{+/-} nakomelingen van wildtype moeders werden kleine verdikkingen gevonden in 2 van de 10 nakomelingen. Neointimavorming in apoE^{+/-} nakomelingen van apoE^{-/-} was versneld en verergerd in verhouding tot genetisch identieke apoE^{+/-} nakomelingen van wildtype moeders. We concluderen dat maternale apoE-deficiëntie tijdens zwangerschap nadelige effecten heeft op het risico voor hart- en vaatziekten in de volwassen nakomelingen.

In **Hoofdstuk 3** werd ook het apoE^{+/-} muismodel gebruikt. We hebben onderzocht of volwassen apoE^{+/-} nakomelingen van apoE^{-/-} moeders ook gevoelig zijn voor neointimavorming in afwezigheid van een cholesteroldieet. Een normaal dieet zonder toevoeging van cholesterol resulteerde in normale cholesterolwaarden in apoE^{+/-} nakomelingen van zowel apoE^{-/-} moeders als wildtype moeders. De resultaten toonden aan dat blootstelling aan maternale apoE-deficiëntie tijdens de embryonale ontwikkeling voldoende was om neointimavorming op te wekken via cuff-plaatsing, zelfs zonder een cholesteroldieet. De neointima verdikkingen in apoE^{+/-} nakomelingen van apoE^{-/-} moeders waren klein, maar aanwezig. Dit bevestigt de hypothese dat een nadelige intrauteriene omgeving gecreëerd door maternale apoE-deficiëntie een belangrijke risicofactor is voor ziekte in het volwassen leven.

Hoofdstuk 4 beschrijft de rol van maternaal hoog cholesterol in intrauteriene programmering van het risico op hart- en vaatziekten in volwassen nakomelingen. Hiervoor werd het Ldlr^{-/-} muismodel gebruikt. In Ldlr^{-/-} nakomelingen leidde intrauteriene blootstelling aan maternaal hoog cholesterol tot vorming van intimaverdikkingen in de bloedvaten van de foetus en ontwikkeling van aderverkalking in het volwassen leven. Maternaal hoog cholesterol lijkt weinig effect te hebben op de gevoeligheid voor aderverkalking in Ldlr^{+/-} nakomelingen. Bestudering van de foetale bloedvaten en cholesterolniveaus in Ldlr^{+/-} foetussen van Ldlr^{-/-} moeders lieten geen nadelige effecten zien in vergelijking met Ldlr^{+/-} foetussen van Ldlr^{+/-} moeders. Bovendien leidde cuff-plaatsing in volwassen Ldlr^{+/-} nakomelingen van Ldlr^{-/-} moeders niet tot versnelde en verergerde neointimavorming. Neointimavorming kon zelfs niet opgewekt worden. Alleen in spontane ontwikkeling van aderverkalking werd een toename in hypertrofie van de mediale laag van de aorta gevonden in Ldlr^{+/-} nakomelingen van Ldlr^{-/-} moeders. Deze data suggereren dat maternaal hoog cholesterol niet de primaire veroorzaker is van intrauteriene programmering. We kunnen concluderen dat maternaal hoog cholesterol waarschijnlijk een regulatoire rol heeft in dit proces.

In **Hoofdstuk 5** is het vermogen van volwassen endotheelcellen om te transformeren van endotheelcel naar mesenchymcel onderzocht. In Tie2LacZ muizen, waarbij door genetische manipulatie de endotheelcellaag met een blauwe kleur gemarkeerd is, werden niet-vernauwende kokertjes rondom de dijbeenslagaders geplaatst. Drie dagen na cuff-plaatsing werd loslating van endotheelcellen zowel als proliferatie van endotheelcellen gevonden. Vanaf 7 dagen na cuff-plaatsing kon de blauwe kleur behalve in de endotheelcellaag ook in de neointima gevonden worden. Een aantal blauwe mesenchymcellen werden ook

positief voor de marker α -gladde spiercel actine. De dubbel-positieve mesenchymcellen zijn waarschijnlijk van endotheelcel oorsprong. De bijdrage van deze cellen aan neointimavorming suggereert een rol voor endotheelcel afgeleide cellen in de ontwikkeling en progressie van hart- en vaatziekten.

Hoofdstuk 6 is een review over factoren van de moeder die via de placenta het kind kunnen bereiken en daar nadelige effecten op embryonale en foetale ontwikkeling kunnen uitoefenen. Dit kan vervolgens leiden tot een verhoogd risico op hart- en vaatziekten. Foetale ondervoeding, maternaal hoog cholesterol en een aantal andere factoren tijdens zwangerschap zijn geassocieerd met een verhoogde kans op manifestatie van hart- en vaatziekten in de nakomelingen, bijvoorbeeld hart- en herseninfarcten. Veranderingen in de normale programmering tijdens kritieke perioden van de embryonale of foetale ontwikkeling kan leiden tot de aanleg van een verhoogde gevoeligheid voor aderverkalking die blijft bestaan tot het volwassen leven. Toenemend bewijs uit dierstudies doet vermoeden dat DNA methylatie en modificatie van histonen epigenetische mechanismen zijn die ten grondslag liggen aan de aanleg van de gevoeligheid.

Hoofdstuk 7 laat zien dat de profielen van histon triple-methylatie modificaties van lysines en de bijbehorende lysine methyltransferases in endotheelcellen en gladde spiercellen veranderd zijn in apoE^{+/-} nakomelingen van apoE^{-/-} moeders in vergelijking met apoE^{+/-} nakomelingen van wildtype moeders. Het lijkt waarschijnlijk dat intrauteriene programmering van een gevoeligheid voor hart- en vaatziekten in het volwassen leven (deels) wordt aangelegd door nadelige invloeden van maternale apoE-deficiëntie op de remodelering van chromatine in de bloedvaten van de nakomelingen.

Hoofdstuk 8 geeft een algemene discussie over de data gepresenteerd in hoofdstuk 2-7. De rol van maternaal hoog cholesterol, oxidatieve stress en veranderingen in het immuunsysteem in intrauteriene programmering van hart- en vaatziekten wordt besproken. Daarnaast worden de epigenetische mechanismen via welke de risicofactoren hun effecten uitoefenen beschreven. Tenslotte wordt waar mogelijk een link gelegd met de situatie in de mens. De mogelijke implicaties van de data beschreven in dit proefschrift op preventie- en behandelingsstrategieën in zwangere vrouwen worden besproken.

In samenvatting, in dit proefschrift wordt het duidelijk dat de intrauteriene omgeving gecreëerd door de moeder gedurende de zwangerschap niet alleen maar positieve effecten heeft op het ontwikkelende embryo. Ondanks dat het nog te vroeg is om

definitieve conclusies te trekken laten de eerste resultaten van het onderzoek zien dat maternale apoE-deficiëntie, in tegenstelling tot maternale Ldlr-deficiëntie, een nadelige invloed heeft op de nakomelingen, zowel in laat foetale stadia alsmede in volwassen leven. Onze resultaten suggereren dat de ontstekingsstatus en het gebrek aan apoE bij de moeder bijdragen aan het verhoogde risico op hart- en vaatziekten bij de volwassen nakomelingen. Hoog cholesterol en oxidatieve stress lijken een meer regulerende rol te spelen. In een eerste poging om het onderliggende mechanisme te ontrafelen laten we zien dat maternale apoE-deficiëntie leidt tot veranderingen in de histon triple-methylatie modificaties in de vaatwand van de nakomeling. Epigenetische mechanismen spelen dus waarschijnlijk een belangrijke rol in het vastleggen van de gevoeligheid voor hart- en vaatziekten. Het betekent niet dat we al dichtbij de complete ontrafeling van het onderliggende mechanisme zijn. Veel onderzoek is nodig om dit doel te bereiken en het is hard nodig. Waarom? Het feit dat blootstelling zo vroeg in het leven tientallen jaren later negatieve effecten heeft op het risico voor hart- en vaatziekten is zorgwekkend. Indien we succesvol zijn in het ontrafelen van de exacte rol van epigenetica in dit proces en in staat zijn de gegevens te vertalen naar de humane situatie, is het wellicht mogelijk de incidentie van hart- en vaatziekten te verminderen.

