



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The role of apolipoprotein CI in lipid metabolism and bacterial sepsis

Berbée, J.F.P.

Citation

Berbée, J. F. P. (2007, May 24). *The role of apolipoprotein CI in lipid metabolism and bacterial sepsis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/11973>

Version: Corrected Publisher's Version

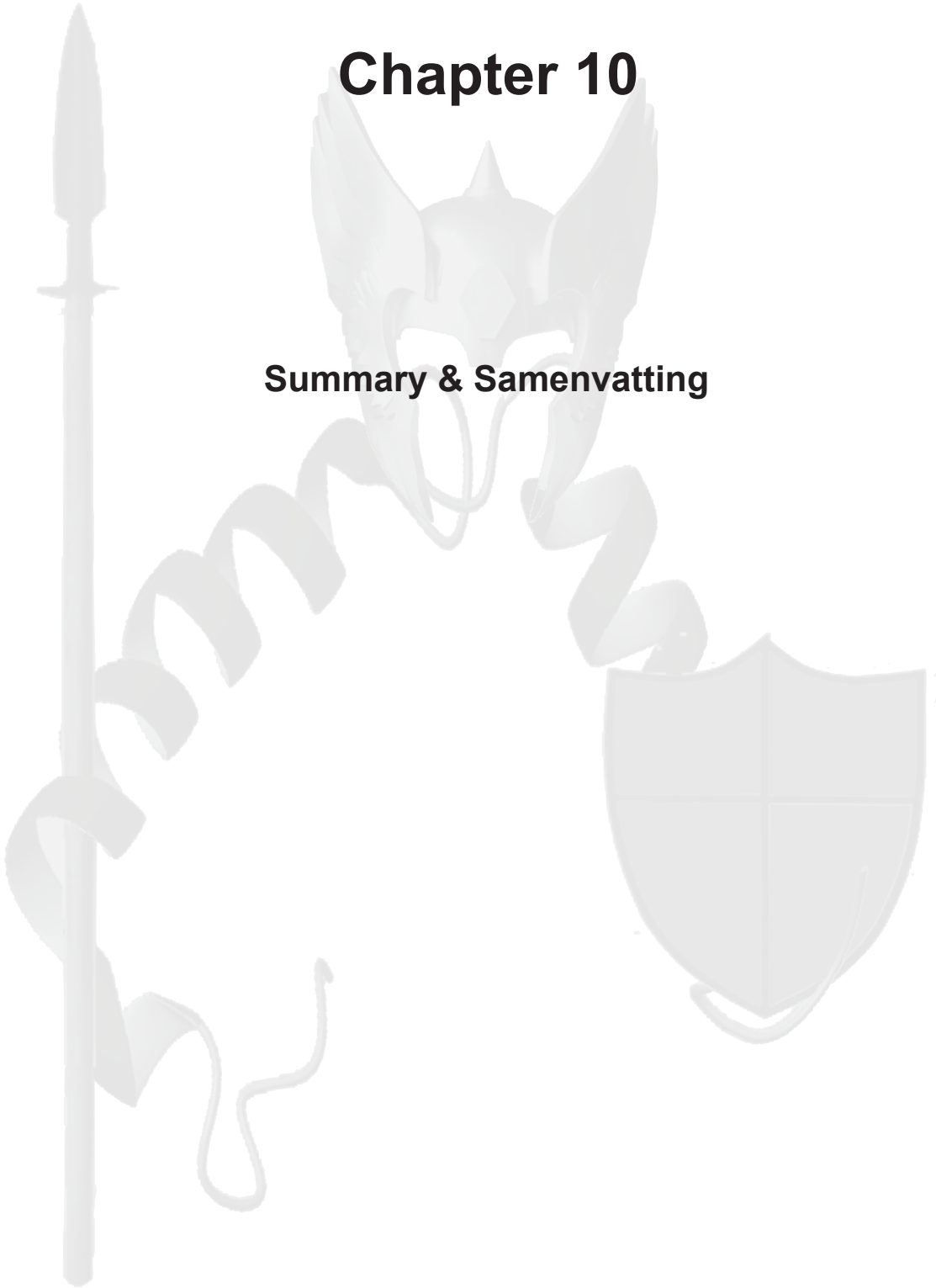
License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/11973>

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

Chapter 10

Summary & Samenvatting



Summary

Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of mortality in the Western world. Hyperlipidemia has long been recognized as one of the major risk factors for developing CVD. Therefore, most therapeutic strategies aimed at preventing CVD are directed towards lowering the lipid levels in hyperlipidemic subjects. Apolipoproteins are important determinants of plasma lipid levels by modulating the activities of enzymes and lipid transfer proteins involved in lipoprotein remodelling, as well as mediating the uptake of lipoproteins and their remnants by the liver and peripheral tissues. Therefore, these apolipoproteins may be promising leads in the search for novel agents that can be applied for the treatment of hyperlipidemia and subsequently CVD. However, in order to be clinically successful, it is crucial to understand the molecular mechanism behind their lipid-modulating effects.

In the first part of this thesis the role of apolipoprotein CI (apoCI) in lipid metabolism was further addressed, while in the second part the association of plasma apoE levels with CVD was investigated. In the final part of this thesis we focused on the role of lipids and apolipoproteins in bacterial infection. Bacterial sepsis is a major cause of death in elderly and critically ill subjects. Accumulating evidence suggests that lipoproteins, and in particular apolipoproteins, are involved in inflammatory processes, and as such modulate the response to bacterial infections. Here we studied the role of apoCI in bacterial infection of both mice and humans.

Studies in humans and mice have suggested a causal relationship between apoCI expression and plasma triglyceride (TG) levels. Overexpression of human apoCI in mice indeed results in combined hyperlipidemia with a more pronounced effect on TG compared with total cholesterol (TC). In **chapter 2** we investigated the main mechanism responsible for this hypertriglyceridemic property of apoCI in mice overexpressing human apoCI (*APOC1* mice). The influx of TG into the circulation via intestinal uptake or via hepatic very-low-density lipoprotein (VLDL) production was not different between *APOC1* and control mice, and could thus be excluded as cause of hypertriglyceridemia. In addition, cross-breeding of *APOC1* mice with apoE-deficient mice showed that the apoCI-mediated hypertriglyceridemia could not merely be attributed to blockade of apoE-recognizing hepatic lipoprotein receptors. Importantly, we found that the plasma half life of VLDL-mimicking remnant particles was increased in *APOC1* mice, suggesting that apoCI reduces the lipolytic conversion of VLDL. Although the plasma LPL concentration was not affected in *APOC1* mice, purified apoCI was able to inhibit LPL-mediated lipolysis *in vitro* and impair the clearance of VLDL-mimicking remnant particles

in vivo. In conclusion, we showed that the hypertriglyceridemic effect of apoCI is the consequence of impaired LPL-mediated TG hydrolysis, and we anticipate that the observed relation between apoCI and TG levels in humans may thus indeed be of causal nature.

Since the VLDL receptor (VLDLr) and apoCIII are potent modifiers of LPL activity, we subsequently studied in **chapter 3** whether the lipolysis-inhibiting action of apoCI would be dependent on the presence of the VLDLr and apoCIII *in vivo*. Hereto, we generated a novel recombinant adenovirus expressing human apoCI (AdAPOC1), which in wild-type mice produced the same phenotype as observed in APOC1 transgenic mice. In addition, AdAPOC1 still increased plasma TG in *vldlr*^{-/-} and *apoc3*^{-/-} mice that were also deficient for the low-density lipoprotein receptor (LDLr) and LDLr-related protein (LRP) or apoE, respectively. Thus, irrespective of receptor-mediated remnant clearance by the liver, liver-specific expression of human apoCI causes hypertriglyceridemia in the absence of the VLDLr and apoCIII. Therefore, we concluded that apoCI is a powerful inhibitor of LPL activity, and can act independent of the presence of the VLDLr and apoCIII.

So far, human studies on apoE and CVD mortality have only focused on the role of the APOE genotype. The three most common alleles are $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, and $\epsilon 4$, which encode three apoE isoforms, apoE2, apoE3, and apoE4, respectively. These isoforms circulate in different plasma concentrations, but plasma concentrations within the same genotype also vary between individuals. Although the results of studies on the association of the $\epsilon 2$ allele and CVD have been conflicting, presence of the $\epsilon 4$ allele has been associated with an increased risk of CVD as compared to non- $\epsilon 4$ expressing subjects. However, the relation between plasma apoE levels and CVD was still unknown. In **chapter 4** we assessed APOE genotypes, plasma levels of apoE, CVD risk factors and mortality in a population-based sample of 85-year old individuals who participated in the Leiden 85-plus Study and were prospectively followed for specific causes of death for 5 years. Both in the total population and within the same genotype, participants with high apoE levels suffered a high risk of CVD mortality. Plasma apoE levels were not associated with other causes of mortality. To further investigate the effect of plasma apoE levels only, and to eliminate the potentially distorting effect of structural changes in the apoE protein, further analyses were performed in $\epsilon 3\epsilon 3$ participants only. Plasma apoE levels were positively associated with TC, LDL-cholesterol, and TG, and negatively with HDL-cholesterol. Adjustment of plasma apoE levels for plasma lipid levels did not change the observed risks of CVD mortality. The risk associated with high levels of apoE, however, was

strongest in participants with low levels of C-reactive protein (CRP) and absent in those with high CRP levels. Among participants with low CRP levels, high plasma apoE levels preceded a steeper increase in CRP during follow-up compared to those with low apoE levels. Taken together, these data show that a high plasma apoE plasma level is a new predictor of CVD mortality in old age. We concluded that levels of apoE may indicate a detrimental lipoprotein profile and/or a proinflammatory response, which both contribute to CVD mortality.

In the last part of this thesis we focussed on the effects of apoCI in bacterial infection. Accumulating evidence indicates a protective role of plasma lipoproteins such as high-density lipoprotein (HDL) in sepsis. Specifically the apolipoproteins on the surface of the lipoproteins seem to be responsible for the effects of lipoproteins on inflammatory responses. It has been reported that septic HDL of humans is virtually devoid of apoCI. In addition, we found by sequence analysis that apoCI possesses a highly conserved consensus *KVKEKLLK* binding motif for lipopolysaccharide (LPS), the main inflammatory component of Gram-negative bacteria. Therefore, we studied in **chapter 5** whether apoCI can play a role in modifying the biological response to LPS and reduce mortality in Gram-negative sepsis. Through avid binding to LPS involving the *KVKEKLLK* motif, apoCI increased the residence time of LPS in the circulation in mice. In addition, apoCI improved the presentation of LPS to macrophages *in vitro* and in mice, thereby stimulating the inflammatory response to LPS. Moreover, apoCI dose-dependently increased the early inflammatory response to *Klebsiella pneumoniae*-induced pneumonia, reduced the number of circulating bacteria, and protected mice against fatal sepsis. From these data we concluded that apoCI is a physiological protector against Gram-negative infection by enhancing the early inflammatory response to LPS.

In **chapter 6** we further elucidated the structure-function relationship of apoCI with respect to its LPS-modulating effects. Besides the LPS-binding motif in the C-terminus of apoCI (*i.e.* apoCI₄₈₋₅₄), which we identified in **chapter 5**, apoCI contains a number of alternating cationic/hydrophobic sequences throughout its structure that may also be involved in binding LPS. Therefore, we designed both N- and C-terminal peptides derived from apoCI containing varying numbers of such sequences. ApoCI₁₋₃₈, apoCI₁₋₃₀, and apoCI₃₅₋₅₇ were able to bind LPS, indicating that apoCI indeed contains additional LPS-binding sites to the previously elucidated LPS-binding motif (apoCI₄₈₋₅₇). ApoCI₁₋₂₃ and apoCI₄₆₋₅₇ showed no LPS-binding capacity. The LPS-binding characteristics of the peptides were reflected by their effects on the kinetics of LPS on intravenous injection in mice. ApoCI₁₋₃₈, apoCI₁₋₃₀, and apoCI₃₅₋₅₇ reduced the association of LPS with the liver and prolonged the serum residence. Finally, both apoCI₁₋

³⁰ and apoCI₃₅₋₅₇ enhanced the LPS-induced inflammatory response *in vitro* in macrophages and *in vivo* in mice. From these studies we anticipate that apoCI, besides the LPS-binding motif, contains highly conserved alternating cationic/hydrophobic sequences present throughout apoCI that participate in the binding to LPS and modulation of the *in vivo* fate of LPS.

Since septic HDL in humans is almost depleted from apoCI, and we found in **chapter 5** that apoCI dose-dependently increased the survival rate in a fatal murine sepsis model by enhancing the eradication of invading microorganisms, we examined the time course of plasma apoCI levels in survivors and non-survivors of severe sepsis in **chapter 7**. Upon hospitalization, plasma apoCI levels were dramatically decreased in all severely septic patients as compared to healthy volunteers. After a nadir on day 2, apoCI gradually increased reaching control levels on day 28. ApoCI levels were higher in survivors as compared to non-survivors and recovered progressively to control levels. In contrast, apoCI levels remained low in non-survivors. Such a difference between survivors and non-survivors could not be found for plasma levels of TG, total cholesterol, and LDL-cholesterol, or HDL-cholesterol. Interestingly, the difference in apoCI levels between survivors and non-survivors remained significant after adjustment for lipoprotein lipids, whereas no such effect between survivors and non-survivors could be found for other apolipoproteins (*i.e.* apoAI, apoB, and apoCIII) after lipid adjustment. We concluded from this study that plasma apoCI levels are markedly decreased in patients with severe sepsis. Since plasma apoCI levels were higher in survivors, even after adjustment for lipid levels, we anticipate that a high plasma apoCI level is a major prognostic factor for survival in patients with severe sepsis.

Since our studies in **chapter 5** showed that plasma apoCI levels dose-dependently protects mice against mortality in bacterial sepsis, we assessed whether also in humans high plasma apoCI levels would be associated with low mortality from infection. We determined plasma levels of apoCI, lipids, and cytokines, and mortality in 85-year old participants of the Leiden 85-plus Study, who were prospectively followed for specific causes of death for 5 years. High levels of apoCI associated with reduced risk of mortality from infection. A similar association was observed for high HDL-cholesterol levels. Importantly, the effect of apoCI level was independent of HDL-cholesterol, as multivariate analysis did not materially alter the association for apoCI, while for HDL-cholesterol significance was lost. Therefore, we concluded that high plasma levels of apoCI associate with low mortality from infection in humans, which corroborates our experimental evidence that apoCI protects against infection-related mortality in mice.

In conclusion, the studies in this thesis show that apoCI induces hypertriglyceridemia by its potent LPL-inhibitory action *in vivo*, which improves our understanding of the relationship between apoCI and TG in both mice and men. In addition, we provide insight into the complex and sometimes contradicting correlations between *APOE* genotype and CVD mortality risk, by showing that plasma apoE levels within the same genotype are a strong predictor of CVD mortality. Finally, our studies identify for the first time a prominent role for apoCI in modulating the host inflammatory response and determining the outcome of sepsis in both mice and humans. These studies offer promising new apoCI-based strategies for the diagnosis, prognosis, and treatment of bacterial infection.

Samenvatting

Hart- en vaatziekten vormen de voornaamste doodsoorzaak in de Westerse wereld. Hyperlipidemie is één van de belangrijkste risicofactoren voor het ontwikkelen van hart- en vaatziekten, en daarom zijn de meeste therapeutische strategieën voor het voorkomen van hart- en vaatziekten gericht op het verlagen van lipidenniveaus in hyperlipidemische mensen. Apolipoproteïnen zijn belangrijk in het bepalen van plasma lipidenniveaus door enerzijds de activiteit te moduleren van enzymen en lipiden transfer eiwitten die betrokken zijn bij de remodelling van lipoproteïnen, en anderzijds de opname van lipoproteïnen en hun remnants door de lever en perifere weefsels te mediëren. Daarom zou het in kaart brengen van de verschillende functies van deze apolipoproteïnen, en de daarbij behorende onderliggende moleculaire mechanismen, kunnen bijdragen aan het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen voor de behandeling van hyperlipidemie, en daarmee ook het risico op hart- en vaatziekten kunnen verminderen.

In het eerste deel van dit proefschrift hebben we de rol van apolipoproteïne CI (apoCI) in het lipoproteïnenmetabolisme nader bestudeerd, terwijl we in het tweede gedeelte de associatie van plasma apoE niveaus met hart- en vaatziekten hebben onderzocht. Het laatste gedeelte van dit proefschrift is toegespitst op de rol van lipiden en apolipoproteïnen in bacteriële infecties. Bacteriële sepsis is een belangrijke doodsoorzaak in ouderen en ernstig zieke mensen. Steeds meer studies suggereren dat lipoproteïnen, en in het bijzonder apolipoproteïnen, betrokken zijn bij inflammatoire processen en daardoor de reactie gericht tegen een bacteriële infectie kunnen moduleren. Hier bestuderen we de rol van apoCI in bacteriële infectie in zowel muizen als mensen.

Studies in mensen tonen aan dat er mogelijk een causaal verband bestaat tussen apoCI expressie en plasma triglyceride (TG)-niveaus in plasma. Overexpressie van apoCI in muizen resulteert inderdaad in ernstige hypertriglyceridemie, met een groter effect op TG dan op totaal cholesterol (TC) niveaus. In **hoofdstuk 2** hebben we het mechanisme achter dit apoCI-gemedieerde hypertriglyceridemisch effect onderzocht in muizen die humaan apoCI tot overexpressie brengen (*APOC1* muizen). De toevoer van TG in de bloedcirculatie door opname vanuit de darm of door productie van zeer lage dichtheids lipoproteïne (VLDL) door de lever waren niet verschillend tussen de *APOC1* en de controle muizen, en kunnen dus niet verantwoordelijk zijn voor de hypertriglyceridemie. Daarnaast hebben we door *APOC1* muizen te kruisen met apoE-deficiënte muizen laten zien dat de lipidenstapeling ook niet voornamelijk het gevolg is van blokkade van deeltjes-opname door de apoE-herkende lipoproteïne receptoren in de lever.

Injectie van VLDL-achtige emulsiedeeltjes leidde wel tot een vertraagde klaring van TG vanuit deze deeltjes uit het plasma. Het lijkt er daarom op dat apoCII de lipolytische afbraak van VLDL remt. Hoewel de totale plasma lipoproteïne lipase (LPL) niveaus niet verschilden tussen de muistypes, was gezuiverd apoCII wel in staat om de LPL-gemedieerde lipolyse van TG *in vitro* te remmen en de klaring van VLDL-achtige emulsiedeeltjes ernstig te verstoren *in vivo*. We concludeerden uit deze studies dat de hypertriglyceridemie in *APOCII* muizen voornamelijk het gevolg is van remming van de LPL-gemedieerde lipolyse van TG, en dat daarom de gevonden relatie tussen apoCII en TG niveaus in mensen dus inderdaad van causale aard kan zijn.

Omdat de VLDL receptor (VLDLr) en apoCIII beide in belangrijke mate de LPL activiteit beïnvloeden, hebben we vervolgens in **hoofdstuk 3** onderzocht of de apoCII-gemedieerde remming van LPL activiteit afhankelijk is van de aanwezigheid van de VLDLr en apoCIII. Daarvoor hebben we een nieuw recombinant adenovirus gegenereerd dat humaan apoCII tot expressie brengt (*AdAPOCII*). Wildtype muizen die geïnjecteerd waren met *AdAPOCII* vertoonden een vergelijkbaar fenotype als *APOCII* muizen. Daarnaast hebben we met behulp van *AdAPOCII* laten zien dat een verhoging van apoCII niveaus nog steeds resulteerde in verhoogde plasma TG-niveaus in *vldlr*^{-/-} en *apoc3*^{-/-} muizen, welke ook deficiënt waren voor respectievelijk de lage dichtheids lipoproteïne receptor (LDLr) en het LDLr-gerelateerde proteïne (LRP) of apoE. Dus onafhankelijk van receptor-gemedieerde klaring van lipoproteïne remnants door de lever, veroorzaakt leverspecifieke expressie van humaan apoCII hypertriglyceridemie in afwezigheid van de VLDLr en apoCIII. Uit deze data hebben we daarom geconcludeerd dat apoCII een sterke en directe remmer is van LPL activiteit.

Tot nu toe hebben humane studies naar de relatie tussen apoE en sterfte door hart- en vaatziekten zich vooral gericht op de rol van het *APOE* genotype. De drie meest voorkomende *APOE* allelen zijn $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, en $\epsilon 4$, welke drie apoE isovormen coderen, namelijk apoE2, apoE3 en apoE4. Deze isovormen circuleren in verschillende concentraties in plasma, maar de plasma concentraties binnen hetzelfde genotype verschillen ook tussen individuen. Alhoewel studies over de associatie van het $\epsilon 2$ allel met hart- en vaatziekten tegenstrijdige resultaten laten zien, hebben dragers van het $\epsilon 4$ allel een verhoogd risico op hart- en vaatziekten ten opzichte van niet- $\epsilon 4$ dragers. Echter, de relatie tussen plasma apoE niveaus en hart- en vaatziekten was nog niet bekend. In **hoofdstuk 4** hebben we plasma niveaus van apoE, *APOE* genotypen, risicofactoren voor hart- en vaatziekten en de doodsoorzaak bepaald in 85-jarige individuen die meededen aan de Leiden 85-plus Studie en die 5 jaar prospectief gevolgd zijn voor specifieke

doodsoorzaken. Zowel in de gehele populatie als binnen hetzelfde genotype hadden mensen met hoge apoE niveaus een hoger risico om te overlijden aan hart- en vaatziekten. Plasma apoE niveaus waren niet geassocieerd met andere doodsoorzaken. Verdere studies werden uitgevoerd met alleen $\epsilon 3\epsilon 3$ individuen om het mogelijk storende effect van het *APOE* genotype op sterfte door hart- en vaatziekte in verdere analyses uit te sluiten. Plasma apoE niveaus waren positief geassocieerd met TC, LDL-cholesterol en TG, en negatief geassocieerd met hoge dichtheids lipoproteïne (HDL)-cholesterol. Correctie van plasma apoE voor plasma lipiden niveaus had geen invloed op de gevonden relaties tussen plasma apoE en risico op sterfte door hart- en vaatziekten. Het verhoogde risico op sterfte door hart- en vaatziekte met hoge plasma apoE niveaus, was het sterkst in mensen met lage plasma niveaus van C-reefief proteïne (CRP), een marker en risicofactor voor sterfte door hart- en vaatziekte, en was afwezig in mensen met hoge CRP niveaus. In de mensen met lage CRP niveaus gingen hoge plasma apoE niveaus vooraf aan een sterkere verhoging van de plasma CRP niveaus dan in mensen met lage apoE niveaus. Samenvattend laten deze data zien dat het plasma apoE niveau een nieuwe onafhankelijke risicofactor is voor sterfte door hart- en vaatziekten. We concludeerden uit deze studies dat een hoog plasma apoE niveau zowel een schadelijk lipoproteïne profiel als een verhoogde proinflammatoire respons kan betekenen, welke beide bijdragen aan sterfte door hart- en vaatziekten.

In het laatste gedeelte van dit proefschrift hebben we ons gericht op de rol van apoCI in bacteriële infecties. Toenemend bewijs wijst op een beschermende rol van plasma lipoproteïnen zoals HDL in sepsis. In het bijzonder lijken de apolipoproteïnen op het oppervlak van de lipoproteïnen verantwoordelijk te zijn voor de effecten van lipoproteïnen op de inflammatoire reacties die met sepsis gepaard gaan. HDL van septische mensen bevat vrijwel geen apoCI. Daarnaast toonden wij met behulp van sequentieanalyse aan dat apoCI een geconserveerd consensus *KVKEKLK* bindingsdomein bevat voor lipopolysaccharide (LPS), het meest inflammatoire bestanddeel van Gram-negatieve bacteriën. Daarom hebben we in **hoofdstuk 5** onderzocht of apoCI in staat is om de biologische respons tegen LPS te moduleren en te beschermen tegen fatale Gram-negatieve sepsis. We hebben laten zien dat apoCI sterk bindt aan LPS, waarbij het *KVKEKLK* domein cruciaal was, wat onder andere resulteerde in een verhoogde verblijftijd van LPS in de circulatie in muizen. Daarnaast verbeterde apoCI de presentatie van LPS aan macrofagen *in vitro* en stimuleerde tevens de inflammatoire reactie tegen LPS in muizen. Bovendien, verhoogde apoCI gendosis-afhankelijk de vroege inflammatoire respons tegen *Klebsiella pneumoniae*-geïnduceerde pneumonia, verlaagde het aantal circulerende bacteriën, en beschermde muizen

tegen fatale Gram-negatieve sepsis. Uit deze data hebben we geconcludeerd dat apoCI een fysiologische beschermer is tegen Gram-negatieve infectie door de vroege inflammatoire response gericht tegen LPS te verhogen.

In **hoofdstuk 6** hebben we de relatie tussen de structuur en de functie van apoCI met betrekking op zijn LPS-modulerende eigenschappen verder bestudeerd. Naast het LPS-bindende domein in het C-terminale gedeelte van apoCI (apoCI₄₈₋₅₄), welke we in **hoofdstuk 5** geïdentificeerd hebben, bevat apoCI een aantal cationische/hydrofobische sequenties in zijn structuur welke mogelijk betrokken zijn bij het binden van LPS. We hebben peptiden gemaakt van zowel het N- als het C-terminale gedeelte van apoCI, welke een verschillend aantal van deze sequenties bevatten. ApoCI₁₋₃₈, apoCI₁₋₃₀ en apoCI₃₅₋₅₇ waren in staat LPS te binden, waaruit we konden afleiden dat apoCI inderdaad additionele LPS-bindings domeinen bevat naast het eerder geïdentificeerde LPS-bindings domein (apoCI₄₈₋₅₄). ApoCI₁₋₂₃ en apoCI₄₆₋₅₇ waren niet in staat om LPS te binden. De LPS-bindende karakteristieken van de peptiden waren vergelijkbaar met het effect op de kinetiek van LPS na intraveneuze injectie in muizen. ApoCI₁₋₃₈, apoCI₁₋₃₀ en apoCI₃₅₋₅₇ verlaagden de associatie van LPS met de lever wat samenging met een langere verblijftijd van LPS in de bloedcirculatie. Ten slotte, verhoogden zowel apoCI₁₋₃₀ en apoCI₃₅₋₅₇ de LPS-geïnduceerde inflammatoire respons *in vitro* in macrofagen en *in vivo* in muizen. We anticiperen dat, naast het LPS-bindende KVKEKLK domein, andere sterk geconserveerde cationische/hydrofobische sequenties in de structuur van apoCI betrokken zijn bij het binden van LPS en het moduleren van de LPS-geïnduceerde effecten *in vivo*.

Omdat HDL van septische mensen vrijwel geen apoCI meer bevat, gecombineerd met onze bevinding in **hoofdstuk 5** dat apoCI dosisafhankelijk de overlevingskans verhoogd in een fataal sepsis model in muizen, hebben we in **hoofdstuk 7** het tijdsverloop van plasma apoCI niveaus in overlevenden en niet-overlevenden van ernstige sepsis bestudeerd. Bij de opname in het ziekenhuis waren plasma apoCI niveaus sterk verlaagd in alle patiënten met ernstige sepsis ten opzichte van gezonde vrijwilligers. Na een lichte verdere daling na 2 dagen keerden de apoCI niveaus geleidelijk terug naar gezonde controle niveaus op dag 28. De apoCI niveaus in overlevenden waren hoger dan in niet-overlevenden en herstelde zich geleidelijk naar controle niveaus. Echter, in patiënten die uiteindelijk bleken te overlijden bleven de apoCI niveaus laag. De gevonden correlaties veranderden niet door correctie van apoCI niveaus voor neutrale plasma lipiden, maar werden door correctie zelfs sterker. Een dergelijk sterke correlatie tussen overlevenden en niet-overlevende konden we niet aantonen met plasma lipiden zoals TG, TC, LDL-cholesterol en HDL-cholesterol, en andere apolipoproteïnen zoals apoAI, apoB en apoCIII. Omdat de plasma

apoC1 niveaus in overlevenden hoger waren dan in patiënten die uiteindelijk bleken te overlijden aan de gevolgen van sepsis, zelfs na correctie voor lipiden niveaus, is een hoog plasma apoC1 niveau een belangrijke prognostische factor voor overleving in patiënten met ernstige sepsis.

Omdat we in onze studies in **hoofdstuk 5** lieten zien dat plasma apoC1 niveaus muizen dosisafhankelijk beschermt tegen sterfte door een bacteriële infectie, hebben we in **hoofdstuk 8** onderzocht of ook in mensen hoge plasma apoC1 niveaus associëren met lage sterfte door infectie. We hebben plasma niveaus van apoC1 en lipiden bepaald in ouderen van de Leiden 85-plus Studie, die 5 jaar prospectief gevolgd zijn voor specifieke doodsoorzaken. Hoge apoC1 niveaus waren geassocieerd met een laag toekomstig risico op sterfte door infectie. Een vergelijkbare associatie werd gevonden voor HDL-cholesterol. Echter, multivariaat analyse toonde aan dat het effect van apoC1 niveaus op sterfte door infectie onafhankelijk was van HDL-cholesterol niveaus. Bovendien bleef de associatie van sterfte door infectie met apoC1 significant, terwijl deze verloren ging voor HDL-cholesterol. Hieruit concludeerden we dat hoge plasma apoC1 niveaus associëren met verminderde sterfte door infectie in ouderen. Deze studie sterkt dus onze experimentele bevinding dat apoC1 beschermt tegen infectiegerelateerde sterfte in muizen.

Samengevat laten de studies in dit proefschrift zien dat apoC1 hypertriglyceridemie induceert door zijn potente remming van LPL *in vivo*, waardoor we de relatie tussen apoC1 en TG in zowel muizen als mensen beter begrijpen. Verder hebben onze studies meer inzicht verschaft in de complexe en soms ook tegengestelde correlaties tussen het *APOE* genotype en het risico op sterven door hart- en vaatziekten, door te laten zien dat plasma apoE niveaus een sterke voorspeller zijn voor sterfte door hart- en vaatziekten binnen hetzelfde genotype. Tenslotte hebben onze studies een prominente rol voor apoC1 geïdentificeerd in het moduleren van de inflammatoire reactie tegen bacteriën en het bepalen van de overlevingsuitkomst van sepsis in zowel muizen als mensen. Deze studies geven dus aanleiding tot nieuwe veelbelovende strategieën voor apoC1-gebaseerde diagnose, prognose en behandeling van bacteriële infecties.

