



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Endothelial dysfunction and inflammation in diabetic nephropathy

Bus, P.

Citation

Bus, P. (2018, June 14). *Endothelial dysfunction and inflammation in diabetic nephropathy*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/63085>

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/1887/63085>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The following handle holds various files of this Leiden University dissertation:
<http://hdl.handle.net/1887/63085>

Author: Bus, P.

Title: Endothelial dysfunction and inflammation in diabetic nephropathy

Issue Date: 2018-06-14

Chapter 8

Nederlandse samenvatting

Diabetes mellitus, ook wel suikerziekte genoemd, ontwikkelt zich wanneer specifieke cellen van de alvleesklier – de β -cellen – minder of geen insuline meer maken, of als bepaalde cellen ongevoelig worden voor insuline. Door een verlaagde insulineproductie, een verlaagde reactiviteit op insuline, of een combinatie hiervan, raakt de glucosehuishouding verstoord. Door deze verstoorde glucosehuishouding ontwikkelen patiënten met diabetes mellitus verschillende soorten complicaties, waaronder diabetische nierschade – ook wel diabetische nefropathie genoemd. In Nederland neemt het aantal patiënten met diabetes mellitus snel toe: van 2,8 procent van de bevolking in 2001 naar 4,5 procent in 2013. Diabetes mellitus beïnvloedt de levens van ongeveer 750.000 Nederlanders. Ongeveer twintig tot veertig procent van de mensen met diabetes mellitus ontwikkelen diabetische nefropathie.

Diabetische nefropathie wordt gekenmerkt door vasculaire schade en is de grootste oorzaak voor eindstadium nierfalen. Dit houdt in dat de nieren niet goed genoeg meer functioneren, waardoor patiënten dialyse-afhankelijk worden of zelfs een niertransplantatie moeten ondergaan. Vanzelfsprekend heeft dit een grote invloed op de levenskwaliteit van deze mensen.

Traditionele behandelmethoden van diabetisch mellitus, zoals het verlagen van de bloedsuikerspiegel, helpen de ontwikkeling van bepaalde complicaties te voorkomen of te remmen. Desondanks is het percentage patiënten met diabetes mellitus dat eindstadium nierfalen ontwikkelt de afgelopen decennia nauwelijks gedaald. Dit geeft aan dat er naast – of in combinatie met – een verstoorde glucosehuishouding ook andere factoren moeten zijn die bijdragen aan de ontwikkeling van diabetische nefropathie.

Diabetes mellitus is historisch gezien altijd beschouwd als een metabolische ziekte. Steeds meer publicaties beschrijven echter de betrokkenheid van het immuunsysteem in deze ziekte en de ontwikkeling van bijbehorende complicaties. Het centrale doel van de studies beschreven in dit proefschrift was om de bijdrage van het immuunsysteem en vasculaire veranderingen te onderzoeken in de ontwikkeling van diabetische nefropathie.

Genetische studies hebben aangetoond dat een afwijking in het apolipoproteïne C1 gen (*APOC1*) leidt tot een verhoogd risico voor

patiënten met diabetes mellitus om diabetische nefropathie te ontwikkelen. Recent is ook gevonden dat patiënten met diabetes mellitus verhoogde concentraties van apolipoproteïne C-I (apoCI) in het bloed hebben ten opzichte van gezonde mensen. ApoCI speelt een belangrijke rol in het lipiden metabolisme, maar is ook betrokken bij ontstekingsreacties. ApoCI versterkt namelijk de ontstekingsreactie van geactiveerde macrofagen. Het is eerder aangetoond dat de ontstekingsreactie van macrofagen bijdraagt aan de ontwikkeling van diabetische nefropathie. In **hoofdstuk 2** van dit proefschrift laten we zien dat muizen die transgeen zijn voor het humane *APOC1* gen (*APOC1*-tg muizen) albuminurie, een verminderde nierfunctie en glomerulosclerose ontwikkelen. Daarnaast hebben deze *APOC1*-tg muizen een verhoogd aantal macrofagen in glomeruli ten opzichte van het aantal in wildtype muizen. Met celweekexperimenten hebben we gevonden dat activatie van macrofagen afkomstig uit *APOC1*-tg muizen leidt tot een sterkere ontstekingsrespons dan activatie van macrofagen afkomstig uit wildtype muizen. Ten slotte hebben we in deze studie laten zien dat er meer apoCI deposities aanwezig zijn in glomeruli van patiënten met diabetische nefropathie dan in diabetespatiënten zonder nier schade en in gezonde mensen. Samengevat suggereren deze data dat toename van apoCI de ontwikkeling van diabetische nefropathie bevordert. Dit komt mogelijk door het versterken van de ontstekingsreactie van macrofagen aanwezig in glomeruli van deze patiënten.

Vasculair endotheel groei factor A (VEGF-A) is belangrijk voor verschillende functies van endotheelcellen, de cellaag aan de binnenzijde van bloedvaten. Het is cruciaal dat VEGF-A levels binnen bepaalde fysiologische waarden blijven, omdat zowel een verhoging als een verlaging van VEGF-A niveaus leidt tot de ontwikkeling van nierschade. In diabetische dieren zijn VEGF-A niveaus hoger dan in niet-diabetische dieren. Ook is laten zien dat een verhoging van VEGF-A niveaus specifieke cellen van de glomerulus de ontwikkeling van diabetische nefropathie verergert.

VEGF-A is op twee manieren betrokken bij de ontwikkeling van glomerulaire ontsteking. Ten eerste zorgt VEGF-A ervoor dat monocytten (ontstekingscellen) naar de glomerulus migreren. Ten tweede draagt VEGF-A bij aan de extravasatie van monocytten door het activeren van endotheelcellen. Een belangrijk onderdeel van glomerulaire ont-

steking is activatie van het glomerulaire endotheel. Dit houdt in dat bepaalde adhesiemoleculen worden opgereguleerd op het endotheel. Monocyten kunnen vervolgens aan deze adhesiemoleculen binden, die op deze manier bijdragen aan de extravasatie van monocyten. VEGF-A zorgt voor de opregulatie van deze markers op het endotheel. Zodra monocyten extravaseren, differentiëren deze cellen naar macrofagen. Zoals eerder genoemd dragen macrofagen bij aan de ontwikkeling van diabetische nefropathie.

In **hoofdstuk 3** van dit proefschrift beschrijven we dat het remmen van VEGF-A in diabetische muizen ertoe leidt dat deze muizen minder albuminurie en minder glomerulaire schade ontwikkelen dan diabetische muizen die niet behandeld zijn met VEGF-A-remmers. Daarnaast zorgt remming van VEGF-A in diabetische muizen voor minder glomerulaire ontsteking ten opzichte van onbehandelde diabetische muizen. Deze data suggereren dat het remmen van VEGF-A in patiënten mogelijk de ernst van de diabetische nefropathie zou kunnen verminderen.

Endoglin is een type 1 membraan glycoproteïne aanwezig op het oppervlak van endotheelcellen. Endoglin is belangrijk voor het onderhoud van endotheelcellen en is daarnaast geassocieerd met endotheelactivatie. Er zijn aanwijzingen dat er een interactie is tussen VEGF-A-signalering en endoglin. Dit mechanisme is echter nog onduidelijk. In **hoofdstuk 4** van dit proefschrift laten we zien dat er meer endoglin in endotheelcellen in glomeruli van diabetische muizen aanwezig is dan in niet-diabetische muizen. Vervolgens hebben we met celkweekexperimenten de betrokkenheid van endoglin in VEGF-A geïnduceerde endotheelactivatie onderzocht. We stelden vast dat een verlaging van de aanwezigheid van endoglin leidt tot verminderde endotheelactivatie na stimulatie met VEGF-A ten opzichte van de endotheelactivatie in endotheelcellen met een normale aanwezigheid van endoglin. Dit had ook tot gevolg dat minder monocyten bonden aan deze endotheelcellen met een verminderde endoglin aanwezigheid. De verlaging van endoglin had tot gevolg dat de intracellulaire signalering van VEGF-A, die normaal gesproken leidt tot endotheelactivatie, was veranderd. In nierweefsel van patiënten vonden we dat de hoeveelheid endoglin in de glomerulus correleert met endotheelactivatie. Dit wil zeggen: hoe meer endoglin, hoe meer endotheelactivatie, en vice

versa. Deze data suggereren dat het verlagen van endoglin levels in diabetespatiënten – en daarmee glomerulaire ontsteking – mogelijk een nieuwe behandelmethodede zou kunnen zijn om de ontwikkeling van diabetische nefropathie te voorkomen, dan wel te remmen.

Het complementsysteem is onderdeel van het aangeboren immuunsysteem. Een belangrijke taak van het complementsysteem is beschermen tegen infectie. Het systeem bestaat uit drie verschillende routes, elk geactiveerd door specifieke stimuli. Er is zowel klinisch als experimenteel bewijs dat het complementsysteem betrokken is bij het ontstaan van diabetische complicaties zoals diabetische oogschade. Er is echter minder bekend over de betrokkenheid van het complementsysteem bij de ontwikkeling van diabetische nefropathie.

In **hoofdstuk 5** van dit proefschrift laten we zien dat complementactivatiemarkers worden opgeregeleerd in patiënten met diabetische nefropathie ten opzichte van diabetes patiënten zonder diabetische nefropathie en ten opzichte van niet-diabetische controles. Daarnaast vonden we een sterke positieve correlatie tussen de aanwezigheid van het complementsysteem in vasculaire structuren van de nier, onder andere in glomeruli, en de ernst van de diabetische nefropathie. Ook vonden we een sterke negatieve correlatie tussen de aanwezigheid van het complementsysteem en de nierfunctie van patiënten met diabetische nefropathie. Deze bevindingen suggereren dat het complementsysteem betrokken is bij de ontwikkeling van diabetische nefropathie. De remming van de activatie van het complementsysteem zou daarom mogelijk diabetespatiënten kunnen beschermen tegen het ontwikkelen van diabetische nefropathie, of de ontwikkeling van diabetische nefropathie kunnen vertragen.

Zoals in hoofdstuk 2 van dit proefschrift beschreven, ontwikkelen *APOC1*-tg muizen nodulaire glomerulosclerose. Deze laesies zijn echter in deze muizen pas aanwezig vanaf de leeftijd van 15 maanden. De relatief trage ontwikkeling van deze ziekte maakt dit model daarom minder geschikt om therapeutische en preventieve interventiestudies mee uit te voeren. In **hoofdstuk 6** van dit proefschrift hebben wij geprobeerd om de progressie van de ziekte in dit model te versnellen door VEGF-A te remmen. Een langdurige verlaging van VEGF-A leidt namelijk tot de ontwikkeling van nierschade, voornamelijk door de invloed van VEGF-A op glomerulaire endotheelcellen. Onze hypothese

was dat de combinatie van *APOC1*-overexpressie en VEGF-A remming zou leiden tot een versnelde progressie van de ziekte in dit model. Onze bevindingen lieten echter zien dat dit niet het geval was. *APOC1*-tg muizen met verlaagde VEGF-A levels hadden juist minder ontstekingscellen in glomeruli dan onbehandelde *APOC1*-tg muizen. Dit suggereert dat het remmen van VEGF-A een anti-inflammatoire werking zou kunnen hebben.

De centrale conclusie van het werk in dit proefschrift is dat het immuunsysteem een belangrijke rol speelt in de ontwikkeling en progressie van diabetische nefropathie. Daarom zou de focus van toekomstige studies, betreffende de behandeling en preventie van diabetische nefropathie, moeten zijn om het immuunsysteem en renale ontsteking te remmen.

