

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/20879> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Wong, Man Chi

Title: Extravascular inflammation in experimental atherosclerosis : the role of the liver and lungs

Issue Date: 2013-05-14



Samenvatting

Publications

Curriculum Vitae

Dankwoord

Samenvatting

Slagaderverkalking of atherosclerose is de belangrijkste onderliggende oorzaak van hart- en vaatziekten. Verstoringen in het vetmetabolisme en ontstekingsprocessen zijn de twee voornaamste risicofactoren voor de ontwikkeling van atherosclerose. Hoge spiegels van zeer-lage-dichtheids lipoproteïne (VLDL) partikels in het bloed leiden tot stapeling van lage-dichtheids lipoproteïne partikels (LDL) in slagaders, waar het LDL chemische veranderingen ondergaat. Afweercellen zoals monocytten worden hierdoor aangetrokken en ontwikkelen zich tot macrofagen die het chemisch veranderde LDL opnemen. Hierdoor ontwikkelen deze macrofagen zich tot zogenaamde schuimcellen. De aantrekking van meer afweercellen en de productie van inflammatoire mediators stimuleren de groei van atherosclerotische plaques. Naarmate deze groter worden, kunnen ze een deel van de bloedvoorziening blokkeren. Verdere ontwikkeling van atherosclerose leidt tot zogenaamde laesies met een kern die voornamelijk vet, cholesterol en vergane cellen bevat. De kern wordt van de bloedstroom gescheiden door een schil van bindweefsel, dat in het meest gunstige geval stevig en dik is. Enzymen die bij ontsteking worden geproduceerd kunnen echter bindweefsel afbreken wat kan resulteren in een onderbreking van deze beschermende laag. Dit kan leiden tot de vorming van een stolsel dat de volledige bloedvoorziening blokkeert, waardoor het achterliggende weefsel afsterft als de bloedvoorziening niet tijdig wordt hersteld.

Om atherosclerose te bestuderen zijn diverse muismodellen ontwikkeld, zoals het *APOE*3-Leiden (E3L)* muismodel. Muizen ontwikkelen van nature geen atherosclerose, omdat ze ten opzichte van de mens een veel gunstiger vetmetabolisme hebben. Door de aanwezigheid van het *E3L* eiwit in dit muismodel wordt het vetmetabolisme verstoord, waardoor deze meer op die van mensen lijkt met als gevolg dat deze *E3L* muizen atherosclerose kunnen ontwikkelen.

In de afgelopen jaren is gebleken dat niet alleen verstoring van deze processen lokaal in de slagaders, maar ook stoornissen in andere organen kunnen bijdragen aan atherosclerose ontwikkeling. In dit proefschrift wordt de rol van de lever en de longen in de ontwikkeling van atherosclerose bestudeerd.

De lever speelt een prominente rol in zowel het vetmetabolisme als bij ontsteking. In **hoofdstuk 2** worden de effecten van een centrale regulator van ontstekingsreacties, nuclear factor- κ B (NF- κ B), op het vetmetabolisme onderzocht. Hiervoor werden muizen gebruikt waarbij alleen in de levercellen NF- κ B overactief was, het zogenaamde *LIKK* muismodel. Deze muizen werden gekruist met *E3L* muizen, wat resulteerde in *E3L.LIKK* muizen. Deze muizen hadden een toegenomen bloedspiegel van triglyceriden vergeleken met de controle *E3L* muizen (zonder *LIKK*). In het lichaam wordt vet opgeslagen in de vorm van triglyceriden. Uit nader onderzoek bleek dat de toegenomen triglyceriden spiegel in de *E3L.LIKK* muizen het gevolg was een verhoogde productie van de VLDL partikels. VLDL partikels transporteren cholesterol en triglyceriden door het lichaam en verhoogde spiegels van VLDL in het bloed leidt tot de vorming van atherosclerose. Om direct het effect van *LIKK* op atherosclerose-ontwikkeling te onderzoeken werden *E3L.LIKK* en *E3L* muizen op een cholesterolrijk dieet gezet en werd de mate en ernst van atherosclerose bepaald na 24 weken (**hoofdstuk 3**). *E3L.LIKK* muizen bleken

meer en ernstigere atherosclerose te ontwikkelen, wat deels verklaard werd door een tijdelijke verhoging in VLDL spiegels. De ontstekingsparameters in het bloed waren niet verschillend tussen de twee groepen muizen, maar na stimulatie met lipopolysaccharide, een component van bacteriën die vaak wordt gebruikt om een ontstekingsrespons teweeg te brengen, waren de spiegels van verschillende ontstekingsmediatoren in het bloed sterker verhoogd in de *E3L.LIKK* muizen vergeleken met de *E3L* muizen. Deze resultaten laten zien dat een verhoogde activiteit van NF- κ B in levercellen leidt tot meer atherosclerose ontwikkeling door een toename in VLDL en ontstekingsmediatoren in het bloed.

Naast de bijdrage van de lever, hebben we de rol van de longen in atherosclerose ontwikkeling onderzocht. Roken is een gemeenschappelijke risicofactor voor atherosclerose en chronische obstructieve pulmonaire ziekten (COPD). COPD gaat gepaard met een achteruitgang in longfunctie en staat nu nog op de zesde plaats van doodsoorzaken, maar zal naar verwachting de derde belangrijkste doodsoorzaak wereldwijd worden in 2020 (alleen overtroffen door hart- en vaatziekten en beroerte). Uit veel humane studies is gebleken dat COPD patiënten een twee tot drie keer verhoogde kans hebben op hart- en vaatziekten dan 'gezonde rokers'. Het mechanisme dat hieraan ten grondslag ligt is onduidelijk. De term COPD omvat drie aandoeningen die vaak gecombineerd voorkomen in patiënten: aandoening van de kleine luchtwegen, chronische bronchitis en longemfyseem. Ontsteking speelt een grote rol bij alledrie de aandoeningen. Chronische bronchitis wordt gekenmerkt door chronisch hoesten en sputum (slijm uit de diepe luchtwegen) opgeven. Bij longemfyseem is er verlies van longweefsel door afbraak van longblaasjes. In **hoofdstuk 4** werd onderzocht wat de effecten van longemfyseem, oftewel destructie van longblaasjes onafhankelijk van roken, zijn op atherosclerose ontwikkeling. Hiervoor werd in de longen van *E3L* muizen éénmalig elastase toegediend. Elastase is een enzym dat elastine, een belangrijk component van longblaasjes, afbreekt. Naast de controlegroep waarbij fysiologisch zout werd toegediend, werden twee verschillende doses elastase, i.e. 15 en 30 μ g, gebruikt om dosisafhankelijke effecten te kunnen bestuderen. Na 20 weken cholesterolrijk dieet werd de mate van atherosclerose in de drie groepen muizen bepaald. Er werd geen verschil in de hoeveelheid atherosclerose gevonden, maar wel een dosisafhankelijke afname in de ernst van atherosclerose in de groepen behandeld met elastase. Dit kan deels verklaard worden door een dosisafhankelijke afname van ontstekingscellen in het bloed van de muizen die elastase toegediend hebben gekregen. De lipidenniveaus in het bloed waren gelijk tussen alle groepen. Deze resultaten wijzen erop dat alleen destructie van longblaasjes geen verklaring is voor het verhoogde risico op atherosclerose in COPD patiënten. Een verhoogde staat van ontsteking in het lichaam draagt bij aan de ontwikkeling van zowel atherosclerose als COPD en kan dus de missende (verklarende) link zijn tussen beide aandoeningen. Mogelijk leidt de toegenomen aanwezigheid van ontstekingsmediatoren in de longen bij COPD tot lekkage van deze mediators in de circulatie wat de ontwikkeling van atherosclerose kan stimuleren.

Door meer inzicht te krijgen in de processen die betrokken zijn bij de vorming van atherosclerose kunnen nieuwe strategieën worden ontwikkeld om hart- en vaatziekten tegen te gaan. Een veelbelovend middel hiervoor is resveratrol, een bestanddeel dat van nature aanwezig is in veel Aziatische kruiden, noten, de schil van rode druiven en in rode wijn. Uit verschillende

studies blijkt resveratrol anti-atherosclerotische werkingen te hebben, zoals het verlagen van lipiden en het verminderen van ontstekingsreacties. Statines zijn cholesterolverlagende middelen die reeds veelvuldig gebruikt worden om de vorming van atherosclerose te remmen in patiënten en hebben ook meerdere anti-atherosclerotische werkingen, waaronder het remmen van ontstekingsprocessen. In **hoofdstuk 5** werd onderzocht of resveratrol de vorming van atherosclerose kan tegengaan in muizen én of dit effect van toevoegende waarde is naast een statine, *i.e.* atorvastatine. Hiervoor werden *E3L* muizen gebruikt die ook het cholesteryl ester transfer proteïne (CETP) gen tot expressie brengen, waardoor het vetmetabolisme van de mens nog sterker benaderd wordt. Muizen hebben van nature namelijk geen CETP die nodig is voor uitwisseling van cholesteryl esters en triglyceriden tussen verschillende vetdeeltjes. *E3L.CETP* muizen werden verdeeld over 4 groepen die elk een ander middel in het dieet kregen: 1. zonder toevoeging (controlegroep); 2. met resveratrol; 3. met atorvastatine; en 4. met de combinatie resveratrol en atorvastatine. Atherosclerose was in dezelfde mate verlaagd in alle groepen met toevoeging van resveratrol en/of atorvastatine, wat voornamelijk verklaard kan worden door een gelijke verlaging in de VLDL-spiegels in de drie behandelingsgroepen ten opzichte van de controlegroep. De niveaus van ontstekingsmediatoren in het bloed was niet verschillend tussen de groepen. Resveratrol heeft dus anti-atherosclerotische potenties, maar biedt geen aanvullende bescherming naast de werking van atorvastatine. Gezien de gunstige effecten van resveratrol en statines op ontstekingsprocessen wordt de effectiviteit van deze middelen ook buiten het gebied van de hart- en vaatziekten onderzocht, waaronder voor COPD.

In **hoofdstuk 6** worden de implicaties en het toekomstperspectief van de verkregen resultaten besproken. Op het gebied van onderzoek naar hart- en vaatziekten is de focus van de slagaders, *i.e.* lokaal, aan het verschuiven naar de bijdrage van distale organen zoals de lever en de longen. Aandoeningen van deze organen moeten daarom meegenomen worden om het risico op hart- en vaatziekten in kaart te brengen en een behandelplan op te stellen. Door meer inzicht te krijgen in de wisselwerking tussen verschillende organen wordt de ontwikkeling van nieuwe middelen gestimuleerd en het toepassingsgebied van bestaande therapieën uitgebreid. Dit leidt tot meer mogelijkheden om niet alleen hart- en vaatziekten, maar ook andere geassocieerde aandoeningen zoals COPD tegen te gaan.

