



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Genetic, clinical and experimental aspects of restenosis : a biomedical perspective

Monraats, P.S.

Citation

Monraats, P. S. (2006, June 6). *Genetic, clinical and experimental aspects of restenosis : a biomedical perspective*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4405>

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/1887/4405>

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

SAMENVATTING EN CONCLUSIES

In dit proefschrift worden verschillende klinische factoren onderzocht en hun relatie met restenose. De nadruk ligt echter op de relatie tussen verschillende polymorfismen van een aantal genen en restenose na percutane coronaire interventie (PCI). Restenose is een multifactorieel bepaald proces, daarom hebben we slechts een deel van het aantal kandidaat genen die mogelijk betrokken zijn bij restenose kunnen onderzoeken. Met die reden hebben we dan ook de nadruk gelegd op inflammatoire markers. Van de inflammatoire reactie is namelijk bekend, dat het een zeer belangrijke rol speelt in het proces van restenose. Om de verschillende genen en de bijbehorende polymorfismen te onderzoeken, hebben we gebruik gemaakt van de GENetische DEterminanten van Restenose (GENDER) studie, een multicenter follow-up studie. Deze studie is opgezet om de associatie tussen verschillende gen polymorfismen en klinische restenose, gedefinieerd door target vessel revascularization (TVR), te bepalen. Patiënten werden geïncludeerd in deze studie na een succesvolle behandeling met PCI voor stabiele angina, acute coronaire syndromen zonder ST-elevatie of stille ischemie. Patiënten met een acuut myocard infarct met ST elevatie werden geëxcludeerd. In totaal werden er 3,104 opeenvolgende patiënten geïncludeerd in deze prospectieve multicenter follow-up studie. In de opeenvolgende hoofdstukken beschrijven we de studie populatie, de klinische factoren en de genen met hun polymorfismen, die we hebben onderzocht. Tevens, hebben we ook gebruik gemaakt van een muizenmodel om ons begrip van de ontwikkeling van restenose verder te kunnen vergroten. Ook hebben we voor een aantal polymorfismen hun functionele effect op eiwit niveau onderzocht. De implicaties van onze bevindingen voor het begrip en de mogelijke preventie van restenose worden besproken.

Voor patiënten, die lijden aan coronaire hartziekten is PCI een veelvuldig toegepaste therapie. Het optreden van klinische restenose blijft echter een significant probleem. Het identificeren van patiënten met een verhoogd risico op het ontwikkelen van restenose zou het classificeren naar risico kunnen verbeteren en daarmee kunnen leiden tot meer individueel aangepaste behandeling. Een aantal klinische karakteristieken is al geassocieerd met een verhoogd risico op restenose na PCI. Tot nu toe, is echter gebleken, dat patiënten niet alleen op basis van klinische of procedurele factoren kunnen worden geclassificeerd naar hun risico voor coronaire restenose. Er is bewijs dat genetische factoren een deel van het verhoogde risico op restenose onafhankelijk van de bekende klinische variabelen zouden kunnen voorspellen. **Hoofdstuk 2** is een review, dat verschillende genen en hun polymorfismen beschrijft, die op het moment dat onze studie is gestart, waren geassocieerd met restenose. Dit review laat zien dat genen inderdaad bij kunnen dragen tot het beter stratificeren van patiënten

met een verhoogd risico op het krijgen van restenose. Het blijkt echter wel, dat veel studies een relatieve kleine patiënten groep onderzochten, die meer positieve uitkomsten laten zien, dan de grotere studies, wat waarschijnlijk in de hand wordt gewerkt door een publicatie bias jegens positieve resultaten. De studies met kleine patiënten aantallen, toonden wijde confidentie-intervallen. Uit deze review, bleek dat er nog veel onderzoek te doen is.

In **hoofdstuk 3** wordt de GENDER populatie beschreven. Dit is de populatie waarvan gebruik is gemaakt om DNA analyses uit te voeren. Dit hoofdstuk laat zien dat voor 3,146 (99,3%) patiënten met een gemiddelde leeftijd van 62.1 ± 10.7 jaar, de follow-up (9.6 maanden, IQR 3.9) compleet is. Van hen zijn 896 (28.5%) patiënten vrouw, hebben er 459 (14.6%) diabetes en 1,459 (46.4%) patiënten leden aan meertaklijden. Een meerderheid van de patiënten werd behandeld voor stabiele angina (2,105, 66.9%). Van alle patiënten werden er 819 (26.0%) behandeld voor multipale laesies, kregen 2,340 (74.4%) patiënten een stent en 820 (26.1%) patiënten werden behandeld met glycoproteïne IIb/IIIa inhibitoren. Alle gestente patiënten ontvingen levenslang aspirine en ticlopidine/clopidogrel tenminste voor 1 maand na de procedure. Target vessel revascularization (TVR) tijdens de follow-up middels bypass chirurgie of PCI was nodig in 304 (9.7%) patiënten. Drieëndertig (1.1%) patiënten overleden aan een hartzieken en 22 (0.7%) patiënten kregen een MI toe te bedelen aan het eerder behandelde vat. In totaal waren er, 346 patiënten (11.0%), die of gerevasculariseerd moesten worden, of dood gingen door een cardiale oorzaak of een MI kregen, op 9 en 12 maanden bedroeg de event-ratio respectievelijk; 10.2 en 12.0%. Wanneer wij als eindpunt TVR namen, bleek het hebben van diabetes, hypertensie, reststenose van meer dan 20% van de lumenale diameter en de behandeling van een totale occlusie het risico van het krijgen van een TVR te verhogen. Zoals verwacht, gaf een succesvolle stentplaatsing een lager risico op TVR. Van de 3,146 patiënten hadden er 42 een event in de eerste 30 dagen. Deze patiënten hebben we geëxcludeerd in de genanalyses, aangezien deze events eerder aan subacute stent trombose of occluderende dissecties konden worden toegeschreven en niet aan restenose.

Diabetes is uit meerdere studies al een belangrijke onafhankelijke voorspeller voor het ontwikkelen van restenose gebleken. Alleen data over het effect van het metabool syndroom op restenose bij patiënten die een PCI ondergaan, zijn beperkt. Om te bepalen wat de rol is van het metabool syndroom op het ontwikkelen van restenose, hebben we binnen een subpopulatie van patiënten uit de GENDER studie een analyse uitgevoerd. Deze subpopulatie bestond uit 901

patiënten, van wie 448 (49.7%) patiënten bekend waren met het metabool syndroom. Deze studie, die wordt beschreven in **hoofdstuk 4**, toont aan dat het metabool syndroom niet is geassocieerd met TVR of het gecombineerde eindpunt na PCI.

Verder bleek dat het hebben van meerdere karakteristieken van het metabool syndroom ook niet was geassocieerd met een verhoogd risico op TVR of op het gecombineerde eindpunt. PCI heeft dus even goede resultaten in patiënten met en zonder het metabool syndroom. Dit is belangrijke informatie gezien de pandemische omvang van het metabool syndroom waarmee de medische wereld te maken lijkt te krijgen.

Om een breed spectrum van genen en hun polymorfismen te scannen en daarbij een overzicht te krijgen welke processen betrokken zijn bij het ontwikkelen van restenose, zijn we het genetische deel van onze studie gestart met het uitvoeren van twee grote assay analyses. In **hoofdstuk 5** analyseren we een van deze assays, welke bestond uit 48 polymorfismen in 34 genen, uit verschillende onderdelen die mogelijk betrokken zijn bij het inflammatoire proces. De 16Gly variant van de beta-2 adrenerge receptor gaf een verhoogd risico op TVR. De zeldzame allelen van het CD14 gen (-260T/T), colony stimulating factor 2 gen (117Thr/Thr) en het eotaxine gen (-1328A/A) bleken geassocieerd met een verminderd risico op TVR. De kans op het vinden van vier significante markers, door het gebruik van multiële test correcties door permutatie analyse was 12%.

Een verhoogde fibrinogeen waarde is geassocieerd met een verhoogd risico op coronaire hartziekten, echter het effect van preprocedurale fibrinogeen waardes op in-stent restenose is grotendeels onbekend. Fibrinogeen is betrokken bij coagulatie en inflammatie, beiden belangrijke processen binnen restenose. Het -455 G/A polymorfisme van het fibrinogeen β gen is geassocieerd met de baseline plasma waarde en de verhoging van fibrinogeen in de acute fase. Om de rol van dit polymorfisme op het ontwikkelen van restenose te onderzoeken, hebben we wederom gebruik gemaakt van een subpopulatie van de GENDER studie. Deze subpopulatie bestond uit 2,309 patiënten, die allen een stent ontvingen. Zoals beschreven in **hoofdstuk 6**, zijn de aanwezigheid van het -455G/A polymorfisme in het fibrinogeen β -gen en de preprocedurale fibrinogeen waarde niet geassocieerd met een verhoogd risico op TVR of het gecombineerde eindpunt in een patiënten populatie met coronaire stent plaatsing. Hiermee tonen we aan dat deze parameters niet van belang zijn voor het stratificeren van patiënten die een verhoogd risico hebben op restenose pre-stenten.

Variaties in het lipoproteïne lipase (LPL)-gen zijn beschreven in een aantal pathofysiologische condities die zijn geassocieerd met coronaire hartziekten. In **hoofdstuk 7** hebben we het effect van deze polymorfismen van het LPL-gen op restenose onderzocht. Patiënten werden genotyped voor vier verschillende LPL-gen polymorfismen. Na multivariabele analyse, bleken dragers van het 447Ter allel van het LPL-enzym een lager risico te hebben op het ondergaan van TVR vergeleken met 447Ser homozygoten. Het LPL C/G polymorfisme (Ser447Ter), dat leidt tot een truncatie van twee C-terminale aminozuren van het ontwikkelde LPL-eiwit, blijkt dus een belangrijke beschermende factor voor TVR in de mens. De rol van LPL in dit proces werd verder onderzocht in een muizenmodel, waarin de LPL-expressie sterk bleek te worden opgereguleerd in de arteriële wand, wat bijdraagt aan de aanname dat dit lipolytische enzym bijdraagt aan het ontstaan van restenose. Het genotyperen van het LPL Ser447Ter polymorfisme, kan daarom mogelijk bijdragen aan een betere risicofstratificatie van patiënten en leiden tot aangemeten therapie en daarmee tot de preventie van restenose na PCI.

TNF α , een zeer belangrijke factor in de inflammatoire reactie, zou een belangrijke invloed kunnen hebben op het ontwikkelen van restenose na PCI. **Hoofdstuk 8** beschrijft het systematisch genotyperen van zes polymorfismen binnen het TNF α gen. Ook werd de rol van TNF α in restenose bepaald in ApoE*3-Leiden muizen, in TNF α knock-out muizen en door de lokale toediening van de TNF α biosynthese inhibitor, thalidomide. Het -238G-1031T haplotype van het TNF α gen verhoogt zowel het klinische als het angiografische risico op restenose ($P=0.02$ and $P=0.002$, respectievelijk). In het muizenmodel van gereactiveerde stenose, bleek het arteriële TNF α mRNA significant en tijdsafhankelijk te worden opgereguleerd. Muizen waarbij TNF α ontbrak of die lokaal waren behandeld met thalidomide toonden een vermindering in gereactiveerde stenose ($P=0.01$ and $P=0.005$, respectievelijk). Het genotyperen van TNF α zou daarom gebruikt kunnen worden als een risicomarker voor restenose en een bijdrage kunnen leveren in de klinische praktijk op het screenen van de individuele patiënt voor PCI. Verder zou inhibitie van TNF α als een anti-restenose therapie kunnen dienen.

Caspase-1 (ook bekend als interleukine-1 β convertie enzym/ ICE), Interleukine-1 receptor-1 (IL-1R) en het proteïne tyrosine fosfatase non-receptor type 22-gen (PTPN22) zijn alle belangrijke mediators in de inflammatoire reactie. Daarom wordt in **hoofdstuk 9** beschreven of polymorfismen in de genetische code van deze drie kandidaatgenen gerelateerd zijn aan het risico van het ontwikkelen van

restenose na PCI. Genotypering werd uitgevoerd door middel van MassArray platform (Sequenom) voor het 5352G/A (L235L) polymorfisme in het caspase-1 gen en het IL-1 α 7464C/G (A124G) polymorfisme en door Taqman analyse voor het 1858C/T (R620W) polymorfisme van het PTPN22-gen. Na correctie voor klinische variabelen bleek het caspase-1 polymorfisme significant geassocieerd met TVR (RR; 2.2, 95% CI; 1.32-3.76). De twee andere polymorfismen toonden geen significante associatie. Caspase-1 is betrokken bij de ontwikkeling van de pro-inflammatoire cytokines IL-1 β and IL-18 en bij apoptose. Om het functionele effect van het caspase-1 polymorfisme te bepalen, hebben we de plasma IL-1 β -waarde gemeten door middel van een enzym-gelinkte immunosorbent assay in lipopolysaccharide (LPS) gestimuleerd volbloed van een subpopulatie patiënt en. Deze analyse demonstreerde een verhoging van de waarde van IL-1 β voor het 5352AA genotype en ook al waren deze resultaten niet statistisch significant, ze versterken wel de hypothese dat het hebben van het 5352AA genotype het risico van het ontwikkelen van restenose vergroot.

Tot slot, onderzoekt het laatste hoofdstuk, **hoofdstuk 10**, vier verschillende polymorfismen in het IL-10 gen. Interleukine (IL)-10, een belangrijk immunosuppressor cytokine, is bij vele aspecten van de immuun reactie betrokken. Genotypering voor de volgende polymorfismen van het IL-10 gen: -592C/A, -2849G/A, -1082G/A and +4259A/G, werd uitgevoerd door middel van MassArray platform (Sequenom). Na correctie voor klinische variabelen waren drie van de vier onderzochte polymorfismen significant geassocieerd met TVR (-2849G/A: RR; 1.7, 95%CI; 1.2-2.5, -1082G/A: RR; 1.4, 95%CI; 1.1-1.8, en +4259A/G: RR; 2.0, 95%CI; 1.4-2.8). Het -592C/A polymorfisme (RR of 0.9, 95%CI; 0.8-1.1) liet geen significante associatie zien. In conclusie, tonen de resultaten van deze studie aan, dat drie polymorfismen van het IL-10 gen zijn betrokken bij de ontwikkeling van restenose na PCI. IL-10 is een risico marker voor het ontwikkelen van restenose en kan bijdragen tot het verbeteren van de individuele therapie, aangezien het zou kunnen dienen als een nieuwe factor om aan te pakken door middel van een drug-eluting stent.

Conclusies

Restenose is de belangrijkste beperkende factor van percutane coronaire interventie (PCI). Genetische variatie biedt de mogelijkheid tot een betere stratificatie van patiënten met een verhoogd risico op het ontwikkelen van restenose. Tevens, kan het bijdragen aan het optimaliseren van de medicatie en een juiste toewijzing van revascularisatie strategieën. Het is echter bij associatie studies gebleken, dat er zich een aantal moeilijkheden kunnen voordoen, die echter beperkt kunnen worden door het volgen van een aantal regels. Hieronder valt onder andere dat de grootte van een populatie groot genoeg moet zijn en dat de resultaten bevestiging nodig hebben. Binnen de GENDER studie hebben wij getracht deze regels te volgen. Het is een grote prospectieve follow-up studie. We hebben verschillende technieken uitgevoerd om verschillende genen en hun polymorfismen, die voornamelijk een rol spelen in de inflammatoire reactie, te onderzoeken. Uit deze analyses, demonstreerden wij een verhoogd risico op het ontwikkelen van restenose voor de volgende polymorfismen: het 16Gly/Gly genotype van de beta-2 adrenerge receptor, 5352AA genotype van het caspase-1 gen, het -2849AA, het -1082AA en het +4259GG genotype van het IL-10 gen. De zeldzame allelen van het CD14 gen (-260T/T), colony stimulating factor 2 gen (117Thr/Thr) en eotaxine gen (-1328A/A) waren geassocieerd met een verminderd risico op TVR. Draggers van het -238GA/AA and -1031TC/CC genotype van het TNF α gen toonden ook een lager risico op het ontstaan van restenose. Het LPL C/G polymorfisme (Ser₄₄₇Ter), dat een truncatie van de twee C-terminale aminozuren van het ontwikkelde LPL-eiwit geeft, blijkt ook een belangrijke beschermende factor voor TVR in de mens. Patiënten met het -455G/A polymorfisme van het fibrinogeen β -gen toonde geen associatie met TVR. Onze resultaten hebben bijgedragen aan een beter begrip van het proces van restenose. Mogelijk kunnen door onze studie nieuwe medicijnen voor drug-eluting stents worden ontwikkeld. De klinische en praktische introductie van genpolymorfismen als nieuwe risico factoren zullen nog verder onderzoek nodig hebben om onze resultaten te kunnen bevestigen. Verder zal het gebruik ervan ook afhangen van de beschikbaarheid van snelle en betaalbare genotyperingstechnieken. Aangezien restenose een multifactoriele aandoening is zullen er nog meer genen binnen de GENDER studie worden onderzocht, waarbij de nadruk meer zal liggen op epigenetische factoren.

List of publications

Low physician compliance of prescribing anticoagulant prophylaxis in patients with solid tumor or hematological malignancies and central vein catheters

C.J. van Rooden, P.S. Monraats, I.M.Kettenis, F.R. Roosendaal, M.V. Huisman

(Thromb Haemost. 2003 Aug;1(8):1842-3)

Genetic predictive factors in restenosis

P.S.Monraats, W.R.P.Agema, J.W.Jukema

(Pathol Biol (Paris). 2004 May; 52(4):186-95)

Current PTCA practice and clinical outcomes in The Netherlands: the real world in the pre-drug-eluting stent era

P.S. Monraats, W.R.P.Agema, A.H. Zwinderman, R.J. de Winter, R.A. Tio, P.A.F.M. Doevendans, J. Waltenberger, M.P.M. de Maat, R.R.Frants, D.E. Atsma, A van der Laarse, E. E. van der Wall, J. W. Jukema

(Eur Heart J. 2004 Jul; 25(13):1163-70)

-455G/A polymorphism and preprocedural plasma levels of fibrinogen show no association with the risk of clinical restenosis in patients with coronary stent placement

P.S. Monraats, J.S.Rana, A.H. Zwinderman, M.P.M. de Maat, J.J.P. Kastelein, W.R.P. Agema, P.A.F.M. Doevendans, R.J. de Winter, R.A. Tio, J. Waltenberger R.R.Frants, A van der Laarse, E. E. van der Wall, J. W. Jukema

(Thromb Haemost. 2005 Mar; 93(3):564-9)

Metabolic syndrome and risk of restenosis in patients undergoing percutaneous coronary intervention

J.S.Rana, P.S. Monraats, A.H. Zwinderman, M.P.M. de Maat, J.J.P. Kastelein, P.A.F.M. Doevendans, R.J. de Winter, R.A. Tio, R.R.Frants, A van der Laarse, E. E. van der Wall, J. W. Jukema

(Diabetes Care. 2005 Apr; 28(4):873-7)

Lipoprotein Lipase gene polymorphisms and the risk of target vessel revascularization after percutaneous coronary intervention

P.S. Monraats, J. S. Rana, M.C. Nierman, N.M.M. Pires, A.H. Zwinderman, J.J.P.Kastelein, J. A. Kuivonhoven, M.P.M. de Maat, S.Z.H. Rittersma, A. Schepers, P.A.F.M. Doevendans, R. J. de Winter, R.A. Tio, R.R. Frants, P.H.A. Quax, A. van der Laarse, E.E. van der Wall, J.W. Jukema

(J Am Coll Cardiol. 2005 Sep;46(6):1093-100)

Genetic inflammatory factors predict restenosis after percutaneous coronary interventions

P.S. Monraats, N.M.M.Pires, W.R.P. Agema, A.H. Zwinderman, A Schepers, M.P.M. de Maat, P.A.F.M. Doevendans, R.J. de Winter, R.A. Tio, J. Waltenberger, R.R.Frants, P.H.Quax, B.J.M. van Vlijmen, D.E. Atsma, A van der Laarse, E. E. van der Wall, J. W. Jukema

(Circulation. 2005 Oct;112(16):2417-25)

Tumor necrosis factor-alpha plays an important role in restenosis development

P.S. Monraats, N.M.M.Pires, A Schepers, W.R.P. Agema, L.S. Boesten, M.R. de Vries, A.H. Zwinderman, M.P.M. de Maat, P.A.F.M. Doevendans, R.J. de Winter, R.A. Tio, J. Waltenberger, R.R.Frants, P.H.Quax, B.J.M. van Vlijmen, L.M. Høvekes, A van der Laarse, E. E. van der Wall, J. W. Jukema

(FASEB J. 2005 Dec;19(14):1998-2004)

Pre-procedural levels of erythrocyte sedimentation rate (ESR) and risk of clinical restenosis in patients with percutaneous coronary intervention and coronary stent placement

J.S. Rana, P.S. Monraats, A.H. Zwinderman, M.P.M. de Maat, J.J.P.Kastelein, W.R.P. Agema, P.A.F.M. Doevendans, R.J. de Winter, R.A. Tio, J. Waltenberger, R.R. Frants, A. van der Laarse, E.E. van der Wall, J. W. Jukema

(Thromb Haemost. 2005 Oct;94(4):892-4)

Polymorphism of the Angiotensin Receptor but not of other renin-angiotensin system (RAS) polymorphisms is associated with restenosis after percutaneous coronary intervention.

J. Wijpkema, P.L. van Haelst, P.S. Monraats, M Bruinenberg, A.H. Zwinderman, F. Zijlstra, G. van der Steege, R.J. de Winter, P.A..FM. Doevendans, J. Waltenberger, J.W. Jukema, R.A. Tio

(Pharmacogenet Genomics. 2006 May;16(5):331-7)

Inflammation and apoptosis genes and the risk of restenosis after percutaneous coronary intervention

P.S. Monraats, L. W. de Jong, D.Pons, V.D.K.D. Sewgobind, A.H. Zwinderman, M.P.M. de Maat, L.M. 't Hart, P.A.F.M. Doevendans, R.J. de Winter, R.A. Tio, J. Waltenberger, R.R. Frants, A. van der Laarse, E.E. van der Wall, J. W. Jukema

(Pharmacogenet Genomics. In press)

Multibiomarker measurement for the prediction of one-year follow-up after elective PCI: a new benchmark for clinical outcome?

S.Z.H. Rittersma, P.S. Monraats, J. W. Jukema, A.H. Zwinderman, M.P.M. de Maat, P.A.F. Doevendans, R. A. Tio, A. van der Laarse, J.G.P. Tijssen, J.P van Straalen, J. Fischer, R.J. de Winter

(submitted)

Interleukin 10: a new risk marker for the development of restenosis after percutaneous coronary intervention

P.S. Monraats, F.R. de Vries, A.H. Zwinderman, M.P.M. de Maat, P.A.F.M. Doevendans, R.J. de Winter, R.A. Tio, J. Waltenberger, R.R. Frants, A. van der Laarse, E.E. van der Wall, J. W. Jukema
(submitted)

Curriculum Vitae

Pascalie Stéphanie Monraats werd op 30 januari 1979 geboren te 's-Gravenhage. Na het behalen van het VWO-diploma in 1997 aan het Rijnlands Lyceum te Wassenaar, startte zij datzelfde jaar met de studie geneeskunde aan de Universiteit van Antwerpen, België. Het jaar daarop begon zij, na te zijn ingeloot voor de studie geneeskunde, te studeren aan de Rijksuniversiteit Leiden. In juni 2001 heeft zij een klinische stage gevolgd, getiteld "Maternal and Child Health Care" in het District Hospital, Mangochi, Malawi. De eerste ervaringen met wetenschappelijk onderzoek werden opgedaan op de afdeling Pathologie o.l.v. dr. V. Smit en vervolgens op de afdeling Interne Geneeskunde o.l.v. dr. M.V. Huisman, beide in het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC). Het doctoraal diploma werd behaald in september 2002. Vanaf juni 2002 werkte zij als onderzoeker op de afdeling Cardiologie (afdelingshoofd: Prof. dr. E.E. van der Wall) van het LUMC (promotores: Prof.dr. J.W. Jukema en Prof. dr. A.H. Zwinderman). Zij werkte hier aan de GENDER (GENetische DEterminanten van Restenose) studie. Dit onderzoek richtte zich op genetische voorspellende factoren voor het ontwikkelen van restenose na een percutane coronaire interventie. Tijdens deze studie heeft ze een half jaar in het laboratorium van de afdeling Farmacologie, Universiteit Maastricht, gewerkt. De resultaten van dit project staan beschreven in dit proefschrift. Sinds september 2005 is ze begonnen aan haar co-schappen om hopelijk haar artsensbul in september 2007 te ontvangen en aansluitend te starten met haar opleiding cardiologie in het LUMC.

Dankwoord

Dit proefschrift is mede tot stand gekomen met de hulp en medewerking van veel mensen. Graag wil ik alle medewerkers van de afdeling Cardiologie van het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC), waarmee ik heb samengewerkt en die hebben bijgedragen aan de totstandkoming van dit proefschrift bedanken. Verder is de studie voortgekomen uit een zeer goede samenwerking tussen verschillende ziekenhuizen, dit zijn: de afdeling cardiologie van het Universitair Medisch Centrum Utrecht, het Academisch Medisch Centrum Amsterdam, het Academisch Ziekenhuis Maastricht en het Universitair Medisch Centrum Groningen, de afdeling Hematologie van het Erasmus MC en de afdeling Cardiobiochemie en Humane en Klinische Genetica van het LUMC, de mensen van die verschillende afdelingen, die hebben geholpen met het tot stand komen en houden van de GENDER-studie wil ik dan ook graag bij deze bedanken.

Aangezien ik het eerste jaar van mijn onderzoek veel tijd in het lab heb doorgebracht en ik daar ben begonnen zonder enige ervaring, zou ik graag de analisten van TNO, van het Sylvius en Minka willen bedanken voor hun werk, uitleg en geduld. Verder Paul Schiffers voor het begeleiden van het pipetteren van de vele assays, die gedaan moesten worden. Nuno bedankt voor de goede en gezellige samenwerking wat betreft de muizenproeven. Saskia voor het aangener maken van al ons uitzoekwerk in de vriezer. Jamal bedankt voor de internationale samenwerking. Verder zou ik de studenten; Florentine, Claire en Varscha willen bedanken voor hun bijdrage aan het vele labwerk. Tevens bedank ik natuurlijk de patiënten, zonder wie er nooit een GENDER studie zou zijn geweest, de Nederlandse Hartstichting, het CMSB en het ICIN voor hun financiële ondersteuning. Verder wil ik mijn directe collega's van de afdeling bedanken voor de gezelligheid in de "tuin" en daarbuiten en de mogelijkheid om af en toe mijn frustraties af te reageren. Miriam en Suus, bedankt voor de gezellige vrouwenpraat, die we hebben gehad en hopelijk ook nog veel zullen hebben. Douwe, bedankt voor je hulp en veel succes met het voortzetten van GENDER.

Ing en Peet, jullie ken ik al zolang, bedankt voor onze hechte vriendschap. Mijn cordial en zeker ook mijn huisgenoten Lars en Janneke, bedankt voor jullie luis terend oor en de lieve kopjes thee.

Beste schaatsfanaat, bedankt voor alle training en adviezen, waardoor ik de finish heb gehaald.

Mijn zusje Mélanie, tevens ook mijn paranimf; op jou kan ik altijd rekenen en ik hoop dat dit altijd zo zal blijven.

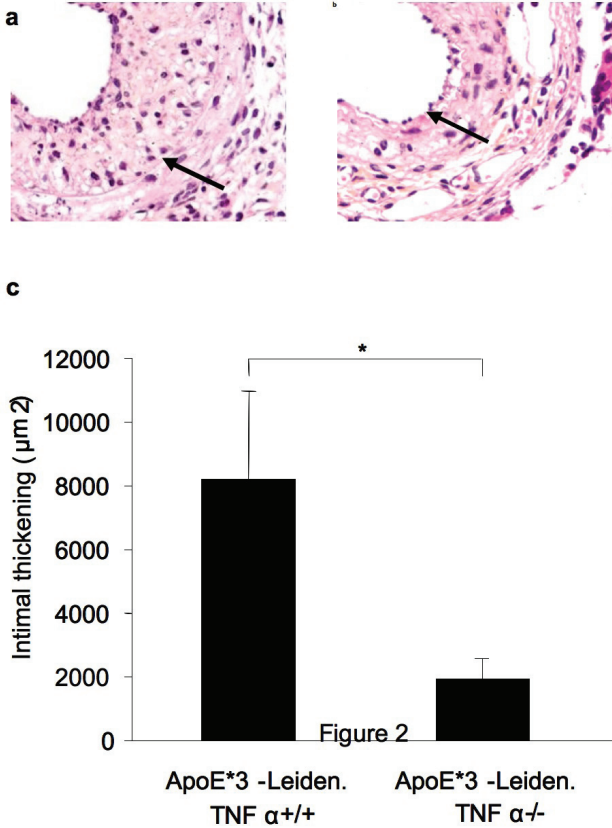
Beste pap en mam jullie wil ik het meest van iedereen bedanken voor de onvoor

waardelijke steun en voor de mogelijkheden die jullie me hebben gegeven om dit te doen. Ik ben blij dat ik weet dat ik altijd op jullie kan rekenen.
Lieve Bart, jou heb ik ontmoet op de afdeling en door jou is mijn promotietijd een onvergetelijke ervaring geworden, ontzettend bedankt daarvoor.

Full color figures

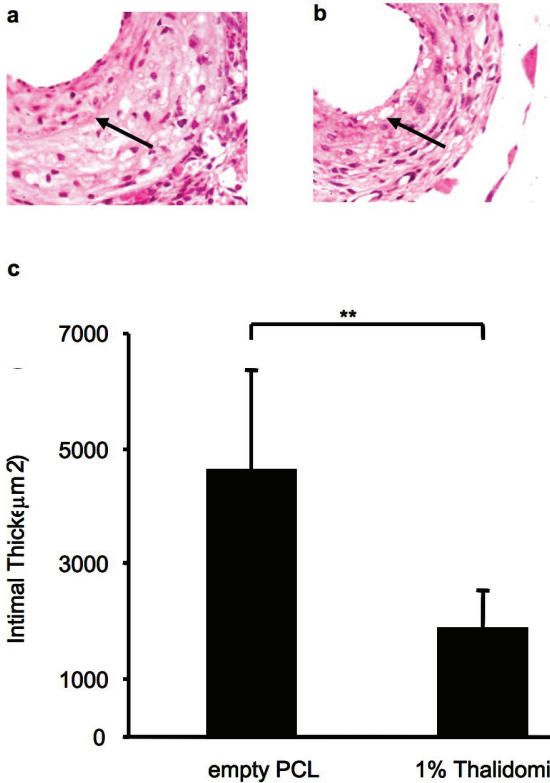
Full color images

Chapter 8 - Figure 2



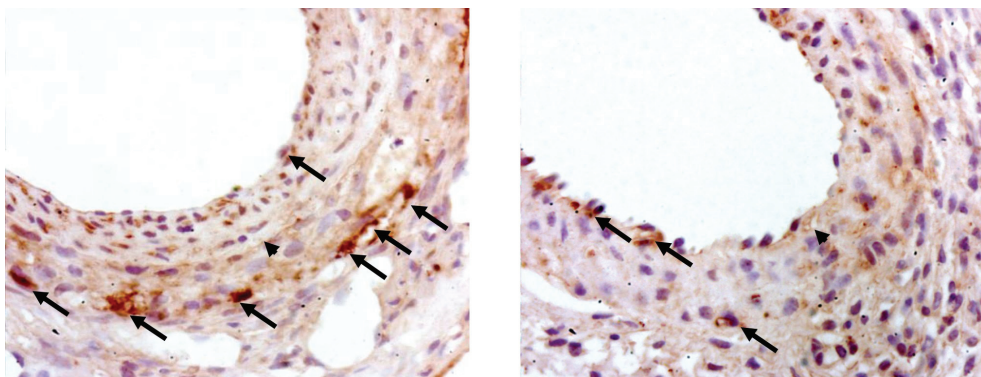
*Representative cross sections of cuffed murine femoral arteries HPS staining, magnification 400x. Arrow indicates the inner elastic lamina . **A:** ApoE*3 LeidenTNF α ^{+/+} mice. **B:** ApoE*3 LeidenTNF α ^{-/-} mice. **C:** Total intimal area of cuffed murine femoral arteries 14 days after cuff placement mean \pm SEM, n=6 . *, P<0.05.*

Chapter 8 - Figure 3

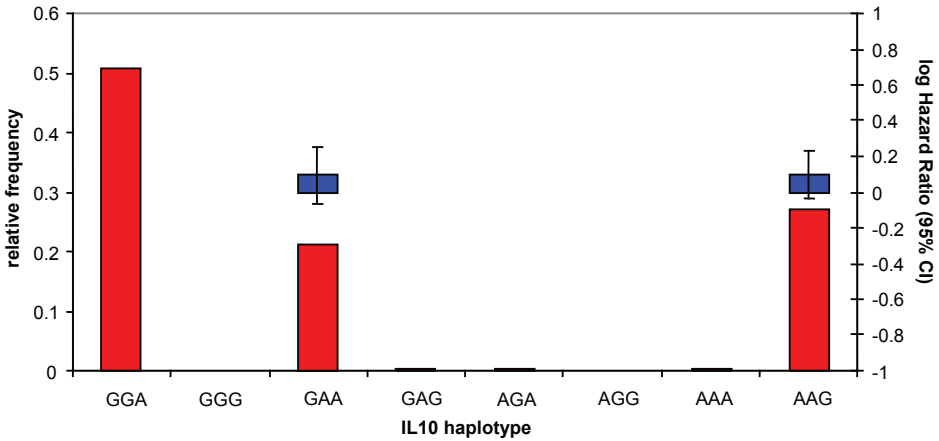


Representative cross sections of cuffed murine femoral arteries HPS staining, magnification 400x. Arrow indicates the inner elastic lamina. A: empty PCL cuff. B: 1% w/w thalidomide eluting PCL cuff. C: Total intimal area of cuffed murine femoral arteries 14 days after cuff placement mean \pm SEM, n=6. **, P<0.01.

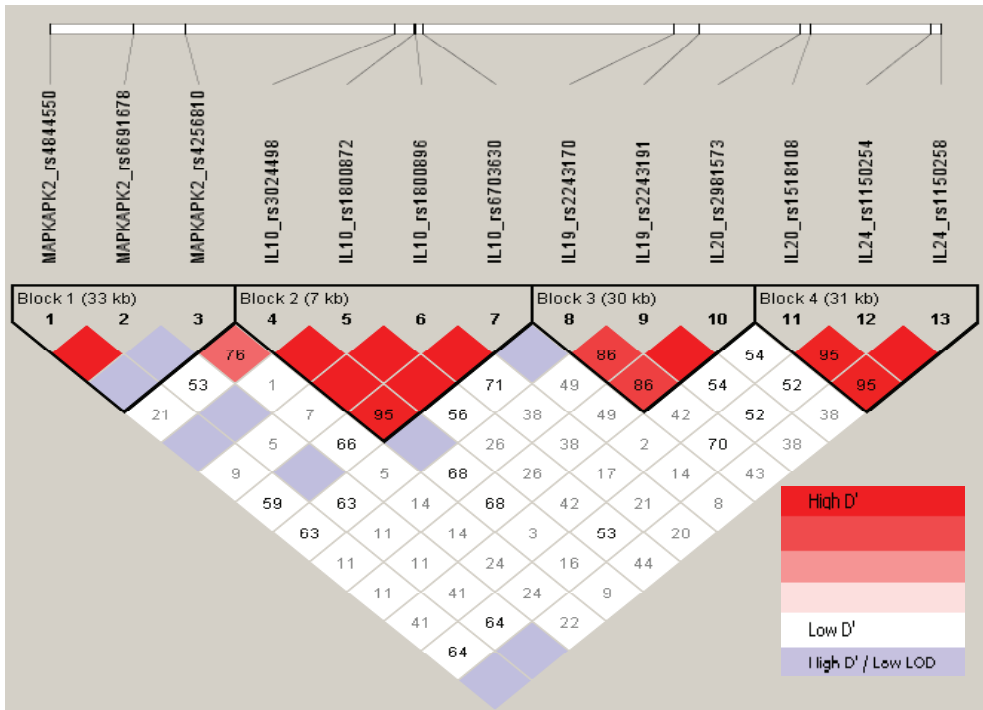
Chapter 8 - Figure 4



TNF α immunostaining of cross sections of cuffed murine femoral arteries 14 days after placement of either **A** an empty PCL or **B** a 1% w/w thalidomide eluting PCL cuff. Magnification 400x. Arrowheads indicate the inner elastic lamina. Arrows indicate TNF α immunostaining



Haplotypes are presented in the following order of polymorphisms: 2849G/A, 1082G/A and the +4259A/G. Of the 8 possible haplotypes, only 3 haplotypes had relative frequency > 1, presented by the red bars. The blue bars present log hazard ratios. Differences were not statistically significant $p > 0.05$.



The haplotype map is made by Haploview version 3.2 software. The basis of this graphical representation is pairwise linkage disequilibrium D' between polymorphisms. D' values are shown in the boxes. In the event of $D'=100$ the boxes are empty. High D' /low LOD indicates no or low recombination between 2 polymorphisms. The region consists of 4 recombination blocks that encompass a 217 kb region between MAPKAPK2 and IL 24. Block 1 comprises the gene MAPKAPK2, block 2 comprises the best known promoter polymorphisms of IL 10 and spans the whole IL 10 gene 592C/A rs1800872, 2849G/A rs6703630, 1082G/A rs1800896 and +4259A/G rs3024498, block 3 shows a link between IL 19 and IL 20. Block 4 shows a link between the IL 20 and IL 24 genes.

