



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Oxidative stress in chronic diseases: causal inference from observational studies**

Luo, J.

### **Citation**

Luo, J. (2022, September 1). *Oxidative stress in chronic diseases: causal inference from observational studies*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3454705>

Version: 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/1887/3454705>

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

## Nederlandse samenvatting

Het hoofddoel van dit proefschrift is het ontrafelen van de causale rol van oxidatieve stress, gemeten door antioxidanten spiegels in bloed en mitochondriaal DNA-kopieaantal (mtDNA-CN), bij het ontstaan van chronische ziekten. In dit proefschrift is de nadruk gelegd op het onderzoek naar cardiometabole ziekten en verwante risicofactoren door het toepassen van conventionele epidemiologische technieken in combinatie met Mendeliaanse Randomisatie. De studies beschreven in dit proefschrift hebben antwoord gegeven op twee hoofdvragen na toepassing van innovatieve epidemiologische onderzoeksmethoden op populatieniveau, namelijk: 1) of mitochondriale disfunctie een causale risicofactor is in de ontwikkeling van atherosclerotische cardiovasculaire ziekten en verwante risicofactoren (**Deel II**), en 2) of antioxidanten in de voeding klinisch relevante voordelen opleveren bij de preventie van atherosclerotische cardiovasculaire ziekten (**Deel III**). Daarnaast werpt dit proefschrift licht op de rol van ontsteking, welke een bron kan zijn van verhoogde oxidatieve stress, bij neurologische aandoeningen (**Deel IV**).

De Mendeliaanse Randomisatie techniek gebruikt genetische varianten die sterk verband houden met de blootstelling om het causale effect van modificeerbare risicofactoren op uitkomsten te onderzoeken. Genetische varianten die reeds bij de conceptie worden geërfd worden willekeurig doorgegeven tijdens de meiose en kunnen worden gebruikt als proxies van de blootstellingsniveaus. Als gevolg van het willekeurig doorgeven van overerfbaar materiaal worden individuen verdeeld in twee vergelijkbare groepen. Degenen die het effect-allel dragen (bijvoorbeeld met een verhoogd blootstellingsniveau, zoals een verhoogd LDL cholesterol) worden toegewezen aan de groep met hogere blootstellingsniveaus, terwijl degenen die het alternatieve allel dragen, worden toegewezen aan de groep met lagere blootstellingsniveaus. Omdat al het genetisch materiaal willekeurig wordt doorgegeven, kunnen genetische varianten niet gerelateerd zijn aan mogelijk versturende factoren die de relatie tussen de blootstelling en de uitkomst beïnvloeden en kan elk verschil in uitkomsten tussen genetisch gedefinieerde groepen direct worden toegeschreven aan de blootstelling. Om deze reden wordt Mendeliaanse Randomisatie beschouwd als een "natuurlijk experiment", dat een gerandomiseerde klinische studie kan nabootsen, waarbij individuen worden gerandomiseerd op basis van een genetische variant in plaats van een bepaalde interventie (bijvoorbeeld een farmaceutisch middel).

In **Hoofdstuk 2** wordt de huidige biologische kennis van oxidatieve stress en de relatie met veroudering en ouderdomsgerelateerde ziekten in experimentele en epidemiologische studies besproken. Ondanks dat reactieve zuurstofradicalen nauw betrokken zijn bij het in stand houden van de normale celfunctie via een breed scala aan signaalroutes, leidt overproductie tot oxidatieve schade aan macromoleculen en verstoort het de mitochondriële functie, wat kan leiden tot een kortere levensduur en de manifestatie van meerdere ouderdomsgerelateerde ziekten. De rol van oxidatieve stress in het ontstaan van ziekten, zoals hart- en vaatziekten, is echter nog niet eenduidig; vooral op basis van de tegenstrijdige bevindingen van verschillende antioxidanten in observationele epidemiologische cohort studies en gerandomiseerde klinische onderzoeken. Desalniettemin

moeten verschillende zwakke punten in het onderzoeksontwerp en het concept van antioxidatieve capaciteit in overweging worden genomen bij het interpreteren van de tegenstrijdige resultaten. Bovendien zijn nieuwe en specifieke biomarkers van oxidatieve schade gerechtvaardigd om het effect van suppletie met antioxidanten beter te kunnen volgen in het lichaam.

In de algemene bevolking, worden veranderingen in de hoeveelheid mitochondriaal DNA (mtDNA-CN) in witte bloed cellen verondersteld een goede proxy te zijn voor de mitochondriale functie. Om deze reden wordt het mtDNA-CN gezien als een aantrekkelijke biomarker omdat dit relatief gemakkelijk in grote aantallen kan worden gemeten. In **Hoofdstuk 3 en 4** is, in lijn met de principes van triangulatie in etiologische (epidemiologische) studies, de rol van mtDNA-CN in cardiovasculaire ziekten en bloed metaboliëten onderzocht met behulp van een combinatie van een prospectief cohortontwerp in de grote UK Biobank, entoeëpassing van de Mendeliaanse Randomisatie techniek. In **Hoofdstuk 3** lieten observationele prospectieve analyses onder deelnemers die vrij waren van hart- en vaatziekten bij inclusie van de studie zien dat een laag mtDNA-CN een risicofactor was voor zowel het ontwikkelen van coronair vaatlijden als hartfalen. Met behulp van Mendeliaanse Randomisatie, op basis van gegevens die zijn gegenereerd door de momenteel grootste genetische consortia en biobanken, werden deze associaties gevalideerd voor coronair vaatlijden, maar niet voor hartfalen. Het uitblijven van het vinden van een relatie tussen mtDNA-CN en hartfalen met Mendeliaanse Randomisatie is waarschijnlijk te wijten aan de fenotypische heterogeniteit van hartfalen. In **Hoofdstuk 4** hebben we de associatie tussen mtDNA-CN met 168 bloedmetaboliëten van voornamelijk lipiden en lipoproteïnen (sub)deeltjes verder onderzocht met behulp van het Nightingale NMR-gebaseerde metabolomics platform. We hebben associaties waargenomen tussen laag mtDNA-CN en een meer atherogeen metaboliëten profiel, dat gekenmerkt wordt door hogere niveaus van de meeste lipiden in bloed. Deze bevindingen suggereren dat mitochondriale dysfunctie, zoals benaderd door mtDNA-CN, een invloed kan hebben op lipidendysregulatie, welke een goed gedocumenteerde risicofactor is voor het ontstaan van atherosclerose en een causale risicofactor is in de pathogenese van atherosclerotische cardiovasculaire ziekten. Verdere studies zijn nodig om de validiteit hiervan in de risicoclassificatie van patiënten en ziektepreventie te onderzoeken.

In **Hoofdstuk 5** onderzochten we het mogelijke causale verband tussen meerdere circulerende antioxidanten en coronaire hartziekten met behulp van Mendeliaanse Randomisatie op basis van data gegenereerd door 3 grote studies en op basis van 768.121 deelnemers van wie 93.230 mensen coronaire hartziekten hadden ontwikkeld. In dit hoofdstuk is bewijs geleverd dat genetisch voorspelde en dus levenslang hogere circulerende antioxidantenniveaus, hetzij als authentieke circulerende niveaus die vergelijkbaar zijn met de spiegels die bereikt kunnen worden door voedingssupplementen of als concentraties van overeenkomstige metaboliëten, het risico op coronaire hartziekte niet verlagen. Het is echter mogelijk dat de circulerende antioxidantniveaus niet gelijk zijn aan de authentieke functionele niveaus, vooral in het geval van vitamine E met zijn duidelijk katabolisme na oxidatieve modificatie. Dit benadrukt de noodzaak om markers die specifiek zijn voor antioxidantcapaciteit, dat wil zeggen de

functionele niveaus van antioxidanten, te koppelen aan hart- en vaatziekten en gerelateerde risicofactoren.

Vitamine E kan worden afgebroken via enzymatische routes in de lever of worden geoxideerd in de periferie. In de leverroute wordt vitamine E enzymatisch omgezet in een spectrum van enzymatische metabolieten. Als alternatief werkt vitamine E als peroxyllipidenradicalenvanger en vormt het geoxideerde metabolieten met de opening van de chromanolring. Deze metabolieten worden voornamelijk via de urine door het lichaam uitgescheiden. In **Hoofdstuk 6 en 7** hebben we ons gericht op de cross-sectionele associaties tussen circulerende vitamine E niveaus in bloed en enzymatische en geoxideerde metabolieten niveaus in de urine, en cardiometabolische eigenschappen bij ongeveer 500 gezonde deelnemers van middelbare leeftijd uit de Nederlandse Epidemiologie van Obesitas Studie. In **Hoofdstuk 6** wordt beschreven dat hogere niveaus van geoxideerde metabolieten in de urine, maar niet de circulerende vitamine E niveaus in bloed en de enzymatisch gemetaboliseerde metabolieten niveaus in urine, geassocieerd waren met een lagere insulineresistentie (als voorloper voor het ontstaan van type 2 diabetes). Daarnaast beschrijft **Hoofdstuk 7** dat de associaties van 147 NMR-gebaseerde metabole biomarker metingen, meestal bestaande uit lipiden en lipoproteïne (sub)deeltjes, met enzymatische metabolieten niveaus, dezelfde richting hebben als die met circulerende vitamine E. Echter, associaties van de metabole biomarkers met geoxideerde metabolieten waren duidelijk verschillend van die met zowel circulerende vitamine E als enzymatische metabolieten. Deze bevindingen benadrukken dat circulerend vitamine E representatief kan zijn voor het enzymatische katabolisme, maar niet voor de antioxidatieve functie van vitamine E.

Ontsteking is onlosmakelijk verbonden met oxidatieve stress. Hoewel de associatie tussen ontsteking en atherosclerotische hart- en vaatziekten welbekend is, is de rol hiervan bij neurologische en neurodegeneratieve aandoeningen niet duidelijk. In **Hoofdstuk 8** wordt een bidirectionele associatie beschreven tussen inflammatoire darmziekte, als een ziektemodel van aanhoudende chronische ontsteking, en depressie met behulp van Mendeliaanse Randomisatie in een gecombineerde steekproefomvang van 693.183 individuen (36.507 ziektegevallen) voor inflammatoire darmziekte en 534.635 individuen (71.466 ziektegevallen) voor depressie. Er werd geen verband gevonden tussen genetisch beïnvloede inflammatoire darmziekte en het risico op depressie, terwijl genetisch voorspelde depressie geassocieerd was met een hoger risico op inflammatoire darmziekte. In **Hoofdstuk 9** hebben we het causale effect van 41 systemische inflammatoire markers op cognitieve functie en hersenatrofie onderzocht met behulp van Mendeliaanse Randomisatie. Na correctie voor het doen van meerdere statistische toetsen werd geen significante associatie waargenomen tussen 40 van de 41 ontstekingsmarkers en één van de onderzochte uitkomsten. Deze resultaten konden echter de rol van ontsteking bij neurologische aandoeningen niet weerleggen. Het is mogelijk dat in plaats van een oorzaak, een overmatige ontstekingsreactie ook een gevolg kan zijn van neurodegeneratieve aandoeningen.

In het laatste hoofdstuk (**Hoofdstuk 10, Deel V**) heb ik de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift samengevat (zoals hierboven vermeld), en de toekomst-

perspectieven besproken op basis van de implicaties van het werk beschreven in dit proefschrift. Voor antioxidanten zal verdere verkenning van antioxidanten bij de preventie en behandeling van hart- en vaatziekten belangrijk blijven gezien hun duidelijke rol in de pathogenese van ziekten. Goed geselecteerde deelnemers voor suppletie en betere biomarkers om suppletie-effecten in onderzoeken te volgen, kunnen meer inzicht geven in de rol van antioxidanten bij hart- en vaatziekten. Bovendien kan ontsteking op een complexe manier geassocieerd worden met neurologische aandoeningen. Dit benadrukt het belang om rekening te houden met de dynamiek van ontstekingen bij de ontwikkeling en progressie van ziekten, met name de verschuiving van een gunstige naar een schadelijke rol. Een diepgaand begrip van de dubbele en complexe rol van inflammatie kan veelbelovende kansen bieden om nieuwe biomarkers te identificeren voor de vroege detectie van ziekten en om proefontwerpen voor de ontwikkeling van geneesmiddelen te vergemakkelijken. Belangrijk is dat implementatie van de beste praktische Mendeliaanse randomisatiemethoden nodig is om causaliteit tussen risicofactoren met chronische ziekten af te leiden. Een voorzichtige toepassing van de resultaten op interventies met optimale strategieën zal leiden tot potentiële doelen voor de preventie en behandeling van chronische ziekten.