



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Shedding a light on vascular remodeling

Sier, V.Q.

Citation

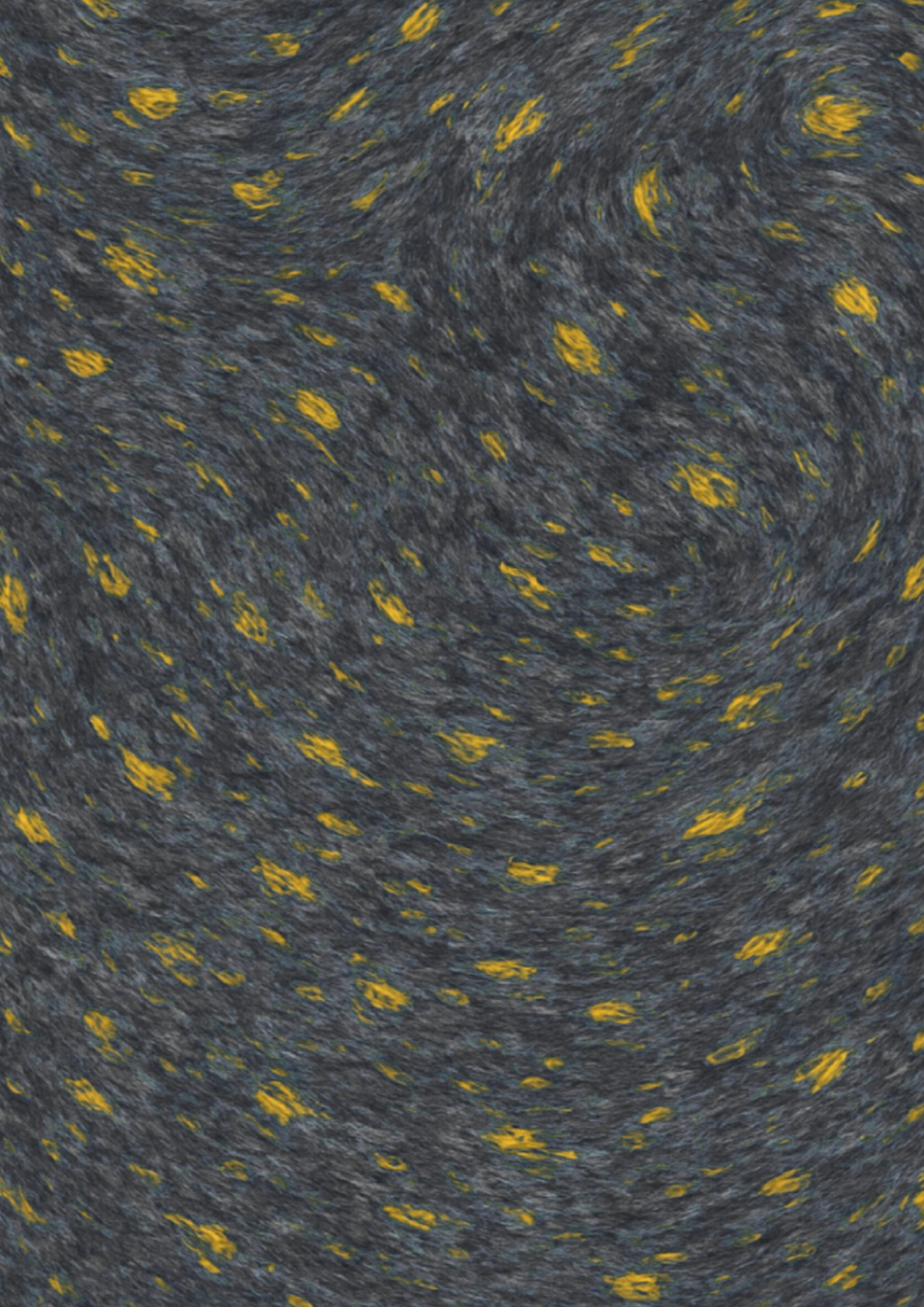
Sier, V. Q. (2026, February 11). *Shedding a light on vascular remodeling*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4289647>

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/1887/4289647>

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



Appendices

Appendices

Nederlandse samenvatting

Vasculaire remodellering is het proces waarbij bloedvaten zich structureel en functioneel aanpassen onder invloed van fysiologische of pathologische processen. Hoewel deze aanpassingen noodzakelijk kunnen zijn voor de functie van de vaatwand, spelen zij bij ziekte een belangrijke rol in ontstaan en progressie van atherosclerose (slagaderverkalking). Deze chronische, vernauwende vaatziekte beperkt de doorgankelijkheid van arteriën en vermindert de bloedtoevoer naar weefsels, wat uiteindelijk kan leiden tot aandoeningen zoals een hartinfarct of kritiek zuurstoftekort van de ledematen. Atherosclerose treft in de kliniek niet alleen de coronaire en perifere arteriën, maar beïnvloedt ook het slagen van zogeheten chirurgische bypassprocedures die bedoeld zijn om de bloedvoorziening te herstellen. Bij patiënten die een coronaire (hart) of perifere (met name benen) bypassoperatie ondergaan met autologe veneuze grafts wordt de duurzaamheid van deze omleidingen vaak bedreigd door een versnelde vorm van atherosclerose. Veneuze graftziekte, die veel eigenschappen deelt met gevorderde coronaire atherosclerose, wordt gekenmerkt door de ontwikkeling van een necrotische kern, een aanhoudende ontstekingsreactie en de ingroei van onrijpe kleine bloedvaten (*neovessels*) in de vaatwand. Deze processen maken atherosclerotische plaques instabiel en kunnen uiteindelijk leiden tot afsluiting van het vat. Ondanks aanzienlijke vooruitgang in medicamenteuze behandeling en chirurgische technieken bestaat er een duidelijke klinische behoefte om de biologische mechanismen die gevorderde atherosclerose aansturen beter te begrijpen, te volgen en gericht te behandelen, vooral bij patiënten met complex obstructief vaatlijden die een bypassoperatie nodig hebben.

Het doel van dit proefschrift is om inzicht te verkrijgen in welke mechanismen binnen het proces van vasculaire remodellering kunnen worden beïnvloed om de uitkomsten bij gevorderde atherosclerose te verbeteren, met aandacht voor nieuwe strategieën voor monitoring en therapie van ziekte bevorderende processen en het identificeren van mogelijke patiënt-specifieke aangrijpingspunten. Bovenstaande is onderzocht door middel van een integratieve aanpak, waarin mechanistische laboratoriumstudies gecombineerd zijn met translationele diermodellen en grote humane databases.

Hoofdstuk II beschrijft de historische ontwikkeling van onze kennis over atherosclerose, vanaf de vroegste beschrijvingen tot de introductie en standaardisatie van chirurgische

bypassprocedures. Lang voordat de ziekte als zodanig werd herkend, zijn in mummies uit het oude Egypte, Peru en andere vroege beschavingen al verkalkte vaatafwijkingen aangetoond die passen bij gevorderde atherosclerose. Een werkelijk begrip van de ziekte ontstond echter pas na eeuwen van anatomische observaties. De oude symbolische en spirituele opvattingen over het hart en de bloedvaten werden geleidelijk vervangen door empirische inzichten van Griekse, Romeinse en later islamitische geleerden. Hardnekkige misvattingen, zoals het idee dat het arteriële en veneuze systeem nauwelijks met elkaar verbonden waren, bleven bestaan tot deze tijdens de Renaissance konden worden weerlegd door systematische ontledingsproeven en het opstellen van nauwkeurige anatomische atlanten.

Met de opkomst van de pathologie in de 18e en 19e eeuw kon atherosclerose steeds vaker worden gekoppeld aan klinische verschijnselen zoals angina pectoris en claudicatio. Ontwikkelingen in de microscopie en histologie brachten lipide-rijke plaques en ontstekingscellen aan het licht, wat leidde tot een groeiend inzicht in de mechanismen van vaatvernauwing. Tegelijkertijd ontwikkelden chirurgen technieken zoals end-to-end anastomosen en bypassoperaties. De baanbrekende bijdragen van onder anderen Kunlin, Carrel en Goetz maakten het mogelijk om een ziekte die voorheen alleen bij obductie werd vastgesteld, chirurgisch te omzeilen om zo de bloedtoevoer te herstellen. Hiermee werd de basis gelegd voor moderne behandelstrategieën voor gevorderde atherosclerose.

Hoofdstuk III onderzoekt endoglin-gerichte moleculaire beeldvorming als methode om de ontwikkeling van kanker en cardiovasculaire aandoeningen te monitoren. Endoglin (CD105) is een transmembraan eiwit dat fungeert als coreceptor voor liganden van de transforming growth factor bèta (TGF- β)-familie en via ALK1- en ALK5-signaleringsroutes de functie van endotheelcellen beïnvloedt. Omdat endoglin sterk tot expressie komt op plaatsen van angiogenese en ontsteking, vormt het een geschikt doelwit voor beeldvorming van actieve vasculaire remodellering. Preklinische studies met onder andere PET, MRI, nabij-infraroodfluorescentie en echografie laten zien dat *neovessels* kunnen worden gedetecteerd in (dier)modellen van tumorgroei, hartinfarct, en vaatwandverzwakkingen. Hoewel veel onderzoek is verricht in oncologische modellen, bevestigen studies binnen de hart- en vaatziekten dat endoglin-gerichte beeldvorming ook bruikbaar zou kunnen zijn in de context van vaatlijden. Endoglin-gerichte beeldvorming

Appendices

zou hiermee gebieden van endotheelactivatie en neovascularisatie kunnen visualiseren en daardoor in potentie kunnen helpen om ziekteprogressie en behandelrespons te monitoren. Directe klinische toepassing staat nog in de kinderschoenen, maar de brede bruikbaarheid in verschillende diermodellen en beeldvormingstechnieken belooft een interessante toekomst voor ziekten waar afwijkende vasculaire remodellering een rol speelt.

Hoofdstukken IV en V bouwen voort op de identificatie van endoglin als marker van vasculaire remodellering en richten zich op de rol van TGF- β -signalerings, met name via de type I-receptoren ALK1 en ALK5. In muismodellen van veneuze grafts, waarbij zowel genetische als farmacologische benaderingen zijn gebruikt, blijkt remming van ALK1 te leiden tot morfologisch positieve vaatremodellering, maar tegelijkertijd ook tot meer ontsteking in de vaatwand, met toegenomen macrofaaginfiltratie en hogere concentraties ontstekingsmediatoren zoals IL-6 en MCP-1. Hoewel neovascularisatie in plaques niet veranderde, nam de structurele instabiliteit toe, met minder gladde spiercellen en minder collageen, wat resulteerde in meer dissecties van de plaque. Vervolgens zijn de afzonderlijke rollen van ALK1 en ALK5 bij vaatremodellering onderzocht in muismodellen, aangevuld met analyses van vena saphena magna monsters van patiënten die een coronaire bypassoperatie zijn ondergaan. TGF- β -signalerings via ALK5 bevorderde contractiele eigenschappen en fibrose van gladde spiercellen, terwijl ALK1-activatie leidde tot migratie van spiercellen en binnenwandverdikking. *Single-cell RNA-sequencing* van humane vena saphena-gladde spiercellen liet subpopulaties zien die voornamelijk ALK1- of ALK5-dominante profielen hadden, wat suggereert dat verschillende fenotypen bijdragen aan de uiteindelijke mate en vorm van vaatremodellering. Farmacologische remming van Smad1/5-fosforylatie via ALK1/2 verminderde de neointimavorming in zowel veneuze graft- als arteriële modellen. Samen laten deze bevindingen zien dat ALK5 een meer contractiel, fibrotisch fenotype stimuleert, terwijl ALK1 een migrerend en synthetisch fenotype bevordert, gekoppeld aan binnenwaartse remodellering en ontsteking. Gerichte modulatie van TGF- β -receptorsignalerings zou de duurzaamheid van veneuze grafts kunnen verbeteren, echter vereist de complexiteit van interacties binnen deze signaleringsroute (zeer) selectief en zorgvuldig ingrijpen.

Hoofdstuk VI introduceert ultra-hoogfrequente echografie als methode om driedimensionale veranderingen in veneuze grafts en arterioveneuze fistels (AVF) bij

muizen nauwkeurig en niet-invasief te volgen. Deze techniek maakt het mogelijk om veranderingen in lumen-, wand- en totale vaatvolumes in de tijd te meten, samen met hemodynamische parameters zoals snelheidsindices en bloedstroom-acceleratie. In zowel wildtype C57BL/6J-muizen als atherosclerose-gevoelige ApoE3*Leiden-muizen konden verschillende patronen van vaatremodellering worden vastgelegd. ApoE3*Leiden-grafts vertoonden duidelijke stabiele wandverdikking, terwijl grafts bij C57BL/6J-muizen weinig veranderden over de tijd. Hemodynamische analyses lieten snelheidsveranderingen zien, vooral proximaal in de graft, wat duidt op mogelijk veranderende wandstijfheid. In het AVF-model bleken op echografie gebaseerde flowmetingen een bruikbare drempelwaarde op te leveren voor het onderscheiden van functionele en niet-functionele fistels. Deze beeldvormingstechniek vormt daarmee een krachtig instrument om de wisselwerking tussen hemodynamica en aanpassing van de vaatwand in preklinische modellen te bestuderen.

Hoofdstuk VII bouwt voort op bovengenoemde beeldvorming en verkent de mogelijkheden om levende cellen en cel-afgeleide deeltjes te gebruiken als actieve *tracers*, analoog aan het idee van het Trojaanse paard. In tegenstelling tot conventionele tracers die passief binden aan ziektehaarden, kunnen “op cellen gebaseerde *tracers*” in theorie actief migreren naar locaties van ontsteking. Voorbeelden zijn monocytten, macrofagen, neutrofielen, T-cellen, NK-cellen, bloedplaatjes en mesenchymale stromale cellen. Daarnaast worden micro-organismen, extracellulaire vesikels en synthetische nanodeeltjes besproken. Vooral nanodeeltjes bieden door hun aanpasbaarheid interessante mogelijkheden voor beeldvorming en mogelijk ook therapie. Hoewel elke klasse zijn eigen voordelen en beperkingen heeft, bieden deze strategieën perspectief voor toekomstige diagnostiek en mogelijke beeldgestuurde interventies bij cardiovasculaire aandoeningen.

De laatste twee hoofdstukken richten zich op de vertaling van onderzoeksbevindingen naar de kliniek door het koppelen van experimentele en beeldvormingsstudies aan grootschalige humane populatie analyses. **Hoofdstuk VIII** onderzoekt de effecten van Proprotein Convertase Subtilisin Kexin type 9 (PCSK9-)remmers op veneuze graftziekte, onafhankelijk van hun (reeds bekende) cholesterolverlagende werking. Met behulp van een muismodel dat gevoelig is voor veranderingen in cholesterol en met geïntegreerde endoglin-gerichte opto-akoestische beeldvorming wordt aangetoond dat PCSK9-remming de stabiliteit van plaques verbetert. Dit gebeurt door maturatie van *neovessels* in de

Appendices

atherosclerotische plaque te bevorderen, wat leidt tot een reductie aan (desastreuze) bloedingen in de vaatwand zelf. Daarnaast vermindert PCSK9-remming de expressie van adhesiemoleculen zoals VCAM1 op *neovessels*, wat leidt tot minder infiltratie van zogeheten T cellen (ontstekingscellen). In vitro bleek PCSK9-remming bovendien de migratie van endotheelcellen en de vorming van nieuwe vaatstructuren te stimuleren. Aanvullende *proteomics* analyses in een grote humane populatie dataset bevestigen dat PCSK9 betrokken is bij meerdere biologische routes, waaronder angiogenese, ontsteking en leukocytenbinding aan de vaatwand. Deze resultaten suggereren dat PCSK9-remming een waardevolle strategie kan zijn om veneuze graft-atherosclerose te stabiliseren en de doorgankelijkheid op de lange termijn te verbeteren.

Hoofdstuk IX maakt gebruik van grootschalige humane populatiegegevens om nieuwe sekse-specifieke verbanden tussen plasma-eiwitten en het risico op coronair vaatlijden te identificeren. In een analyse van meer dan veertigduizend personen zonder initiële hart- en vaatziekten werden honderden eiwitten gevonden in het bloed die specifiek bij mannen of vrouwen met het risico op coronair vaatlijden associëren. Door deze bevindingen te combineren met Mendeliaanse randomisatie analyses onder meer dan een miljoen personen werden causale aanwijzingen gevonden voor meerdere van deze eiwitten. Validatie in onafhankelijke cohorten bevestigde de biologische relevantie van de belangrijkste kandidaat-eiwitten. De geassocieerde biologische routes verschilden duidelijk tussen de seksen: angiogenese en groeifactorroutes waren sterker aanwezig bij mannen, terwijl aangeboren immuniteit en regulatie van geprogrammeerde celdood prominenter waren bij vrouwen. Op basis van machinelearning modellen werden vervolgens potentiële medicamenteuze doelwitten geïdentificeerd, waaronder CTSH bij mannen, CDKN2D bij vrouwen en enkele gedeelde kandidaten zoals TNFRSF4. Deze bevindingen wijzen op sekse-specifieke mechanismen in coronair vaatlijden en bieden nieuwe mogelijkheden voor toekomstig onderzoek en gepersonaliseerde preventie en behandeling.

Toekomstperspectieven

Inzicht in vasculaire remodelling is essentieel voor het verbeteren van de langetermijntoekomst van patiënten met gevorderde atherosclerotische aandoeningen. Dit proefschrift belicht deze processen zowel letterlijk, via geavanceerde beeldvorming, als figuurlijk, door biologische mechanismen en patiëntspecifieke aangrijpingspunten te identificeren op basis van gecombineerde celbiologische, dierexperimentele en computationele benaderingen.

Het identificeren van klinisch relevante mechanismen binnen vasculaire remodelling vraagt om een translationele onderzoekscyclus die begint en eindigt bij de patiënt. Gegevens uit grote populaties kunnen worden gebruikt om mogelijke aangrijpingspunten te identificeren (zoals in **Hoofdstuk IX**), die vervolgens in cellulaire of diermodellen kunnen worden getest en daarna opnieuw klinisch kunnen worden geëvalueerd, bijvoorbeeld via beeldvorming of gerichte interventiestudies. Dit markeert in wezen een verschuiving van het klassieke hypothesegebreven naar een meer datagedreven onderzoeksstijl. Onderzoekers krijgen steeds vaker te maken met grote tabellen vol robuuste statistische verbanden die namelijk nog moeten worden geïnterpreteerd. De uitdaging ligt hier in het leggen van verbanden en het combineren van onderzoeksdata met bestaande pathofysiologische kennis. Naarmate deze datasets groter en complexer worden en er meer experts nodig zijn om dit te overzien, neemt ook het risico toe dat onderzoekers zich in verschillende richtingen begeven zonder gemeenschappelijk begrippenkader, vergelijkbaar met een moderne variant van de Toren van Babel. Daarom is samenwerking tussen basale, computationele en klinische disciplines cruciaal.

Terugkijkend op de geschiedenis van atherosclerose, zoals in **Hoofdstuk II** beschreven, is het duidelijk dat klinische inzichten en wetenschappelijke vooruitgang elkaar voortdurend hebben beïnvloed. Een recent voorbeeld is de FAME 3-studie, waarin FFR-geleide PCI met moderne stents werd vergeleken met CABG bij patiënten met drievatslijden. In vergelijking met eerdere studies zoals SYNTAX toonden beide behandelstrategieën in FAME 3 betere resultaten, waarschijnlijk door verbeterde techniek, perioperatieve zorg en gerichtere medicamenteuze ondersteuning. In dit licht suggereren de bevindingen uit **Hoofdstuk VIII** dat PCSK9-remming mogelijk een rol kan spelen bij het verminderen van veneuze graft-atherosclerose, onafhankelijk van cholesterolverlaging. Aangezien middelen zoals

Appendices

alirocumab, evolocumab en de siRNA-therapie inclisiran steeds breder beschikbaar zijn, opent dit nieuwe mogelijkheden voor toepassing bij patiënten die een bypassoperatie of andersoortige revascularisatie ondergaan.

Hoe de behandeling van vasculaire remodelling zich ook verder ontwikkelt, nauwkeurige monitoring zal altijd een centrale rol spelen. Zoals **Hoofdstukken III, VI, VII en VIII** laten zien, maken verfijnde beeldvormingstechnieken het mogelijk om structurele, functionele en moleculaire veranderingen van de vaatwand gedetailleerd te volgen. Ultra-hoogfrequente echografie en doelgerichte opto-akoestische beeldvorming maken real-time monitoring van vaatwandveranderingen mogelijk, terwijl op cellen gebaseerde tracers en nanodeeltjes gericht biologische processen kunnen visualiseren of zelfs moduleren.

Deze technologische vooruitgang in beeldvorming ondersteunt tevens de ontwikkeling van futuristische oplossingen zoals *tissue-engineered* vaatprothesen als alternatief voor autologe grafts. Hoewel de mechanische en biologische eigenschappen van deze prothesen nog niet geheel gelijkwaardig zijn aan die van het eigen weefsel, zorgen recente innovaties in materiaaltechnologie, scaffolds en beeldvorming voor groeiend optimisme.

Of cel-gebaseerde beeldvorming, *tissue-engineered* grafts of PCSK9-remmers in de toekomst standaard onderdeel worden van de diagnostiek en behandeling van vasculaire remodelling valt nog te bezien. De tijdloze nieuwgierigheid naar nieuwe invalshoeken onderstreept echter wel dat vooruitgang in de wetenschap vaak voortkomt uit het gezamenlijke streven van onderzoekers die bereid zijn verder te denken dan de status quo.

