



Samenvatting proefschrift Annette Bruggink

'Reverse remodeling of the extracellular matrix in heart failure after left ventricular mechanical support'

Promotie: 8 januari 2008
Universiteit Utrecht

Promotor:
Prof. dr. J.G. van den Tweel

Co-promotoren:
Dr. R.A. de Weger
Dr. F.H.J. Gmelig-Meyling

Dit proefschrift beschrijft een onderzoek over de veranderingen in de extracellulaire matrix (ECM) van het myocard, bij patiënten met eind stadium hartfalen en gedurende mechanische ondersteuning (LVAD) van de linker kamer. De veranderingen gedurende LVAD ondersteuning kunnen mogelijk leiden tot herstel van het hart.

Hoofdstuk 1 is een algemene introductie die een overzicht geeft van hartfalen, hart transplantatie, en de LVAD. Het proces van remodeling dat leidt tot hart falen, en dat van reverse remodeling gedurende LVAD ondersteuning, worden beschreven. Verder wordt een samenvatting gegeven van de ECM componenten, en van de rol van enzymen, hormonen en cytokinen in de myocardiale ECM veranderingen bij patiënten vóór en na de LVAD ondersteuning.

Hoofdstuk 2 geeft een overzicht van de rol van verschillende cytokine polymorfismen bij transplantaatafstoting. Cytokinen beïnvloeden elkaars functie en productie. Ook nucleotide polymorfisme (SNP) in de genen van cytokinen kunnen het productieniveau beïnvloeden. Deze SNP zijn uitgebreid bestudeerd in de context van acute afstoting na orgaantransplantatie. Een veelheid van resultaten is verkregen door vele onderzoeksgroepen. In de meeste studies heeft men zich geconcentreerd op het SNP genotype van de ontvanger. Het wordt echter steeds duidelijker dat, naast het immune systeem van de ontvanger, ook het micromilieu van het donororgaan tot cytokine productie bijdraagt, en daardoor de afstotingsprocessen kan beïnvloeden.

Hoofdstuk 3 omvat een studie van TNF α promoter polymorfismen, en hun mogelijke bijdrage aan de ernst van hart falen en transplantaat afstoting.



TNF α plasma niveaus werden gemeten voorafgaande aan harttransplantatie, bij patiënten die alleen medicatie kregen, en bij patiënten met een LVAD. TNF α plasma niveaus waren hoog in patiënten met eindstadium hartfalen ten opzichte van de gezonde controles. In patiënten met LVAD ondersteuning was dit niveau zelfs nog hoger dan in de patiënten die alleen medicatie kregen. Er lijkt een correlatie te zijn tussen de TNF α plasma levels en het G allel op positie -308. Na LVAD ondersteuning waren de TNF α levels weer genormaliseerd. Er is geen correlatie gevonden tussen het A allel op positie -308 (waarbij A is geassocieerd met relatief hoge TNF α niveau's) met de ernst van het hartfalen en transplantatie afstoting. Ontvangers van donor harten met het positie -308 A allel, hadden wél vaker transplantaat afstoting dan patiënten die een G allel hart ontvingen.

Hoofdstuk 4 beschrijft de veranderingen in het fibrillair collageen netwerk in de ECM. De cardiomyocyte grootte bleek met 36% af te nemen tijdens de eerste 100 dagen na LVAD ondersteuning. Dit ging gepaard met een toename in ECM volume, hoewel na langdurige LVAD ondersteuning (> 365 dagen) de ECM wel in volume afnam. Bij patiënten met eindstadium hartfalen, voor LVAD support, werd een toegenomen afbraak en een verminderde aanmaak van collagenen gevonden ten opzichte van de gezonde controle. Na LVAD ondersteuning werd het tegenovergestelde gevonden: Verhoogde aanmaak van de collagenen en een verminderde afbraak. Verder toonden we aan dat de kwaliteit van het collagenen netwerk verbeterde, omdat er minder afbraak producten werden gevonden. Deze resultaten geven aan dat het hart kleiner wordt en het collagenen netwerk in de ECM zich herstelt door LVAD ondersteuning.

Hoofdstuk 5 concentreert zich op de veranderingen in het basaal membraan (BM) rondom de cardiomyocyten. Met behulp van kwantitatieve PCR (QPCR) werden geen veranderingen gezien in de mRNA expressie van de collageen α -ketens. Hoewel, met antistoffen tegen type IV collageen vonden we een verminderde type IV collageen aankleuring na LVAD ondersteuning. Elektronenmicroscopische analyse wees uit dat de BM om de cardiomyocyten in gezonde controle harten en in patiënten met eindstadium hartfalen dik en oneffen was, in tegenstelling tot situatie bij de patiënten na LVAD ondersteuning. Verder waren er juist bij normale harten, én voorafgaande aan de LVAD ondersteuning, duidelijke verbindingen tussen de cardiomyocyten en de ECM aanwezig, deze verbindingen werden nog maar sporadisch waargenomen na LVAD ondersteuning. Verder is onderzocht in hoeverre matrix metalloproteïnases (MMPs) een belangrijke rol spelen bij de afbraak van de BM. MMP-2, wat in staat is om type IV collageen af te breken, was toegenomen in patiënten voorafgaande aan LVAD ondersteuning, maar nog hoger na LVAD. Dit werd aangetoond via mRNA, immunohistochemie, en gelatine zymografie.



Actief MMP bleek aanwezig in het BM. Dit suggereert dat MMP-2 type IV collageen in de basaal membraan afbreekt gedurende LVAD ondersteuning.

In **Hoofdstuk 6** wordt het onderzoek beschreven naar de rol van het neuro-hormoon Brain Natriuretic peptide (BNP) bij het remodelings proces. BNP behoort tot de familie van de natriuretische peptiden en wordt voornamelijk gemaakt in de linker ventrikel. BNP heeft natriuretische, diuretische en vaatverwijdende eigenschappen en kan antagonistisch werken binnen het renine-angiotensine-aldosteron systeem; het is verhoogd bij patiënten met hartfalen. Plasma BNP bepaling heeft prognostische waarde bij het vaststellen van cardiale morbiditeit en mortaliteit. In onze patiënten groep werden ook verhoogde BNP plasma waarden gevonden geassocieerd met het terminaal hartfalen. Na LVAD waren de plasma BNP niveaus weer lager. Immunohistochemisch onderzoek wees uit dat BNP tot expressie komt in de hartspiercellen, maar ook in infiltrerende T-cellen.

Hoofdstuk 7 beschrijft de rol van cathepsine K in het remodelings proces. Cathepsine K mRNA en eiwit-expressie was hoog in de patiënten voorafgaande aan LVAD ondersteuning. Na LVAD ondersteuning daalde de mRNA expressie, maar nam de eiwit expressie juist toe. Immunohistochemisch onderzoek wees uit dat de macrofagen in het hart de voornaamste cathepsine K producenten zijn. Na LVAD ondersteuning nam het aantal macrofagen af. Het lijkt er op dat cathepsine K een belangrijke rol speelt bij het remodelings proces bij patiënten met eind stadium hartfalen vóór LVAD ondersteuning.

Hoofdstuk 8 is een algemene discussie van het onderzoek beschreven in dit proefschrift. Op dit moment worden de LVADs gebruikt als overbrugging naar hart-transplantatie en, in enkele patiënten, zelfs als brug naar herstel. Het herstel van het hart doorgaans noch compleet, noch permanent. In dit proefschrift is aangetoond dat de cardiomyocyten, de ECM en het collageen netwerk zich herstellen en zelfs lijken te normaliseren. Verder bleek de basaal membraan afgebroken te worden en er werd een afname gezien van de verbindingen tussen de hartspiercellen en de ECM, na LVAD ondersteuning. Deze verbindingen zijn van essentieel belang voor de kracht overdracht tussen de cardiomyocyten, en zolang die verbindingen niet hersteld zijn, lijkt het gebruik van een LVAD als brug naar herstel nog geen reële optie. ◀