

## NEDERLANDSE SAMENVATTING

### *Het acute hartinfarct*

Hart- en vaat ziekten zijn een van de grootste doodsoorzaken wereldwijd. In Nederland sterven er gemiddeld 107 mensen per dag aan hart- en vaatziekten, waaronder het acute hartinfarct. Een acuut hartinfarct ontstaat wanneer een van de bloedvaten, die het hart voorziet van zuurstofrijk bloed, dicht komt te zitten. In veel gevallen betreft dit de bloedvaten die de linker kamer (ofwel ventrikel) van het hart van bloed voorzien. Hierdoor krijgt een deel van de hartspier onvoldoende zuurstof, ook wel ischemie genoemd. Deze ischemie zorgt voor celschade en celdood wat uiteindelijk leidt tot een ontstekingsreactie in de linker ventrikel van het hart, waarbij ontstekingscellen (neutrofiële granulocyten, macrofagen en lymfocyten) en zuurstofradicalen een grote rol spelen. Deze ischemie en ontsteking gerelateerde schade in het hart vergroot de kans op hartfalen.

### *Vroeg detectie van het hartinfarct*

Bij klinische en forensische obducties is het van belang om een hartinfarct te kunnen detecteren of uit te sluiten als doodsoorzaak. Met behulp van een nitroblauw tetrazolium (NBT) kleuring van de hartplak, waarmee het enzym lactaat dehydrogenase (LDH) wordt aangetoond, kan een infarct van op zijn minst 3 uur oud macroscopisch worden aangetoond. Hartspiercellen die ten gevolge van ischemie beschadigd raken, zullen namelijk LDH verliezen waardoor deze cellen in de NBT kleuring niet aankleuren. Het aantonen van een infarct jonger dan 3 uur, is echter problematisch. Vanuit diermodellen is bekend dat ultrastructurele afwijkingen in mitochondriën, namelijk de vorming van eiwitdeposities, al vanaf 2 uur na een infarct te detecteren zijn. In **hoofdstuk 2** laten we zien dat deze deposities ook te vinden zijn in het humane hart. We hebben namelijk gevonden dat er een toename is van mitochondriën met deze deposities, in het aangedane geïnfarceerde deel van het hart (linker ventrikel) van hartinfarct patiënten ten opzichte van het niet aangedane deel (rechter ventrikel) van dezelfde patiënt of in controle, niet-geïnfarceerde harten. Met behulp van deze techniek kunnen we aldus een infarct aantonen tussen de 2 en 3 uur oud.

### *Pathologische rol van de intramyocardiale bloedvaten*

De intramyocardiale bloedvaten spelen een belangrijke rol bij het transport van voedingsstoffen, zuurstof en afvalstoffen van en naar de hartspiercellen. Afwijkingen in deze bloedvaatjes kunnen grote gevolgen hebben voor de omliggende weefsels. Zo is er bekend dat bij mensen met diabetes, de basaal membraan van deze bloedvaatjes in de nieren en het hart verdikt zijn, wat leidt tot een slechter functioneren van deze organen. Of deze basaal membraan verdikking ook voorkomt bij een hartinfarct, is niet bekend. In

**hoofdstuk 3** laten we zien dat in hartweefsel van patiënten met een hartinfarct, deze basaal membraan inderdaad verdikt is. Vervolgens hebben we gekeken of het doormaken van een infarct voor deze verdikking kan zorgen, door een infarct na te bootsen in een diersmodel (rat). In de eerste uren na dit infarct, vonden we geen verdikking van de basaal membraan. Dit suggereert dus dat de verdikking van de basaal membraan, die wij gevonden hebben in de patiënten, waarschijnlijk al voorafgaand aan het hartinfarct aanwezig was. Patiënten die deze veranderingen in hun basaal membraan hebben, hebben aldus een groter risico op het krijgen van een hartinfarct, aangezien de verdikking van het basaal membraan de transport van zuurstof en voedingsstoffen zou kunnen belemmeren of zelfs geheel niet meer plaats kan vinden waardoor hartspiercellen kunnen afsterven. Het precieze mechanisme van het ontstaan van deze basaal membraan verdikking, is nog niet geheel bekend.

### ***Stress-geïnduceerd hart falen***

#### *Stress-geïnduceerde myocarditis*

Een andere vorm van hartfalen die de laatste jaren steeds meer aandacht krijgt, is stress-geïnduceerd hart falen, waaronder de stress-geïnduceerde myocarditis en de stress-geïnduceerde (Takotsubo) cardiomyopathie. Bij deze vorm van hartfalen worden een ontsteking (myocarditis) en/of structurele veranderingen (cardiomyopathie) gezien van de hartspier. Deze hartschade ontstaat door een te hoog gehalte aan stresshormonen, ook wel catecholamines genoemd, zowel in het bloed als lokaal in het hart, als gevolg van stress. Wanneer deze stresshormonen voor een lange tijd in te hoge hoeveelheden in het hart aanwezig zijn, bijvoorbeeld door langdurige emotionele stress, trauma aan het hoofd of een bijniertumor, overstimuleren deze hormonen vervolgens de hartspiercellen waardoor deze beschadigd raken en kunnen afsterven, met hartfalen als gevolg. Er zijn 3 soorten stresshormonen bekend in het menselijk lichaam, namelijk adrenaline, noradrenaline en dopamine. Naar de schadelijke effecten van te hoge hoeveelheden adrenaline en noradrenaline is al veel onderzoek gedaan. Veel minder is bekend wat het effect is van hoge concentraties dopamine op de hartspiercellen. In **hoofdstuk 4** laten we zien dat het stimuleren van in kweek gebrachte rat hartcellen met dopamine, ervoor zorgt dat deze hartspiercellen een verhoogde hoeveelheid zuurstof radicalen produceren (oxidatieve stress), vetten ophopen (lipotoxiciteit) en ontstekingsbevorderende veranderingen krijgen van de celmembranen (pro-inflammatoire status), met celdood tot gevolg. Deze resultaten laten aldus zien dat hoge concentraties dopamine ook een direct schadelijk effect hebben op hartspiercellen. Deze afwijkingen kunnen de stress-geïnduceerde myocarditis en/of cardiomyopathie, zoals die gezien worden in patiënten met stress-geïnduceerd hartfalen, mogelijk mede verklaren.

### *Pulmonale embolieën*

Longembolieën kunnen eveneens een stress reactie induceren. Bij een longembolie zijn een of meerdere bloedvaten in de longen afgesloten, door bijvoorbeeld een bloedprop (thrombi), waardoor er schade ontstaat in het longweefsel aangezien dit geen bloed meer krijgt. Dit heeft ook effect op de hartspier, aangezien de druk in de rechter ventrikel van het hart stijgt, wat schade in de hartspier kan geven en uiteindelijk kan resulteren in hartfalen. In **hoofdstuk 5** hebben we dit schadelijke effect van longembolieën nader onderzocht in overleden patiënten. Hiervoor hebben we hartweefsel, van zowel de rechter als linker ventrikel, onderzocht op de aanwezigheid van ontstekingscellen (neutrofiële granulocyten, macrofagen en lymfocyten) en complement (een marker voor celschade) en hebben dit vergeleken met hartweefsel van patiënten die geen hartfalen of longembolie hebben (controles). We vonden toen, in zowel de rechter als linker ventrikel van deze longembolie patiënten, een toename van ontstekingscellen in combinatie met een toename van complement. Dit duidt aldus op een hartspierontsteking met schade van deze hartspiercellen, die mogelijk ontstaan is door een stressreactie ten gevolge van de longembolieën. Deze bevindingen zouden deels het falen van het hart kunnen verklaren die in deze longembolie patiënten gevonden worden.

### *Brandwonden*

Brandwonden kunnen resulteren in ernstige complicaties zoals infecties, shock maar ook hartfalen. Dit komt mede, doordat er bij (ernstige) brandwonden een massale ontstekingsreactie geïnduceerd wordt, niet alleen lokaal in de brandwond, maar ook systemisch. Dit heeft een negatief effect op de wondgenezing van de brandwond maar ook op verschillende andere organen, waaronder het hart. Een belangrijke rol in de ontstekingsreactie na een brandwond, is weggelegd voor complement, een acuut fase eiwit. Het is bekend dat in brandwonden complement langdurig en ook sterk geactiveerd is, wat zou kunnen verklaren waarvoor de wondgenezing in brandwonden afwijkend is.

C1-esterase inhibitor (C1inh) is een geneesmiddel dat complement kan remmen. In proefdieren is aangetoond dat C1inh positieve effecten heeft op de wondgenezing van brandwonden, alhoewel in deze studies voornamelijk op het korte termijn gekeken is, namelijk tot maximaal 4 dagen na de brandwond. Aangezien complement tot weken na het ontstaan van de brandwond verhoogd aanwezig is, hebben we in **hoofdstuk 6** gekeken naar het effect van C1inh op de langere termijn, namelijk 14 dagen. Hiervoor hebben we een brandwond gesimuleerd in ratten, waarbij een deel van deze ratten behandeld is met C1inh. Vervolgens hebben we de ontstekingsreactie in de brandwond en in het hart geanalyseerd. We vonden dat brandwonden inderdaad een sterke ontstekingsreactie induceerde zowel lokaal in de brandwond, alsmede ook in het hart, passend bij een stress-gerelateerde reactie. In ratten die behandeld waren met C1inh, vonden we een remming van deze ontstekingsreactie lokaal in de brandwond, resulterend in een verbeterde wondgenezing van de brandwond. Ook

vonden we een verminderde ontsteking in de hartspier. Bovendien bleek dat C1inh, het anti-inflammatoire phenotype van macrofagen induceerde in zowel de brandwond als het hart. Hieruit blijkt dus dat C1-inhibitor ook op de langere termijn, niet alleen een positief effect heeft op de wondgenezing van de brandwond maar dat het ook het hart kan beschermen tegen een ontsteking van de hartspier.

### ***Ontsteking van de atria***

#### *Het acute hart infarct en atrium fibrilleren (AF)*

In de afgelopen decennia, is er veel onderzoek gedaan naar de pathofysiologie van het hartinfarct. In deze onderzoeken is vooral naar de ontstekingsreactie in het spierweefsel van de linker ventrikel van het hart gekeken, daar waar het infarct met name optreedt, maar is er slechts weinig bekend van het effect van het hartinfarct op de niet geïnfarceerde rechter ventrikel of de boezems (ofwel atria). In **hoofdstuk 7**, laten we zien dat een hartinfarct van de linkerventrikel, ook een ontstekingsreactie geeft in de rechterventrikel en beide atria. Ook in patiënten met stress-geïnduceerde myocarditis, vonden we een ontsteking in de rechter ventrikel en beide atria, zoals beschreven in **hoofdstuk 8**.

Ook vonden we in een diermodel (rat) waarin een hartinfarct is nagebootst, een toename van het advanced glycation endproduct (AGE), N<sup>ε</sup>-(carboxymethyl)lysine (CML) in het endotheel van de intramyocardiale bloedvaten van zowel de ventrikels als de atria van het hart. Deze AGEs zijn versuikerde eiwitten die kunnen zorgen voor een activatie/beschadiging van het endotheel, hetgeen dus een ontstekingsreactie kan induceren (pro-inflammatoir). Zowel deze toename van CML van het endotheel en de toename van ontstekingscellen in de atria van het hart kon worden geremd met C1inh, zoals beschreven in **hoofdstuk 7**.

Atria fibrilleren (AF) is een hartritme stoornis, waarbij de atria van het hart niet meer normaal samentrekken. AF is geassocieerd met ontsteking van de atriale hartspier. In deze AF patiënten, zijn verhoogde bloedwaarden van AGEs beschreven. Niettemin is de rol van AGEs in de atriale weefsels onbekend. In **hoofdstuk 9** beschrijven we, dat we in de linker atria van het hart van AF patiënten, een sterke toename van CML in het endotheel van de kleine bloedvaatjes gevonden hebben, wat samenging met endotheelcel activatie en een toename van ontstekingscellen, vergeleken met controles. Het is bekend dat AF vaak voorkomt als gevolg van een hartinfarct. Wij hebben nu ook gevonden dat C1inh de atriale ontstekingen en AGE positiviteit van bloedvaten als gevolg van een hartinfarct, kan remmen. Kortom, C1inh zou mogelijk een nieuw therapeuticum kunnen zijn bij het voorkomen van AF na een hartinfarct. Theoretisch zou C1inh, in verband met zijn remmende effect op de atriale ontsteking en de remming van de AGE positiviteit in vaten, ook een potentieel therapeuticum kunnen zijn bij het voorkomen van AF, onafhankelijk van AMI. Dit moet echter nog verder onderzocht worden.

## **Conclusies**

Verschillende aspecten van de pathophysiology van het hartinfarct en stress-geïnduceerde myocarditis zijn geanalyseerd in dit proefschrift.

Op een ultrastructureel niveau, hebben we in overleden patiënten gevonden dat een hartinfarct resulteert in de vorming van deposities in de mitochondriën van de hartspiercel, 2 uur na het infarct, hetgeen een additionele tool kan zijn in de vroeg detectie van het hartinfarct. Daarnaast hebben we gevonden dat in patiënten met een hartinfarct veranderingen in de intramyocardiale bloedvaten optreden, namelijk een verdikking van het basaal membraan en een verhoogde aanwezigheid van AGEs, die beiden een rol kunnen spelen bij het ontstaan van een hartinfarct.

We hebben ook gevonden, dat een stress-gerelateerde myocarditis geïnduceerd wordt in patiënten met longembolieën en in ratten met brandwonden. Het is al langer bekend dat de stresshormonen, adrenaline en noradrenaline, schadelijke effecten kunnen hebben op het hart. Wij hebben nu laten zien dat het stresshormoon dopamine, vergelijkbare effecten heeft. Dopamine induceerde namelijk lipotoxiciteit, oxidatieve stress, en een pro-inflammatoire status van de plasma membraan van hartspiercellen, wat deels een verklaring kan zijn voor de ontsteking van de hartspier en voor de gevonden schadelijke effecten in het hart van patiënten met een stress-geïnduceerde myocarditis en/of cardiomyopathie.

Bij zowel het hartinfarct als de stress-geïnduceerde myocarditis, hebben we gevonden dat de ontstekingsreactie in het hart zich niet beperkt tot de ventrikels maar zich ook uitbreidt in de atria. Dit zou een rol kunnen spelen bij het ontstaan van atria fibrilleren, wat gevonden wordt bij een deel van hartinfarct patiënten, waarin AGEs een belangrijke rol spelen. We vonden dat zowel de ontstekingsreactie als de aanwezigheid van AGEs in de atria bij hartinfarcten, verminderd werden door het toedienen van C1inh, wat duidt op een potentieel nieuwe therapeutisch medicijn ter preventie van atria fibrilleren bij een hartinfarct.