



## Samenvatting proefschrift Sandra Dunning

*'Resistance of activated stellate cells to cell death in liver fibrosis: mechanisms and targets for intervention'*

**Promotiedatum: 15 december 2008**  
**Universitair Medisch Centrum Groningen**

**Promotor:**  
Prof. dr. A.J. Moshage

**Co-promotor:**  
Dr. K.N. Faber

Leverfibrose wordt gekenmerkt door excessieve bindweefselvorming in de lever. Bij vrijwel alle chronische leverziekten treedt leverfibrose op. De cellen die verantwoordelijk zijn voor de bindweefselvorming in de lever zijn de zogenaamde stellaatcellen. Dit zijn fibroblast-achtige cellen. Onder normale omstandigheden slaan de stellaatcellen vitamine A op en produceren zij precies de juiste hoeveelheid bindweefsel. Tijdens chronische leverziekten vindt activatie van stellaatcellen plaats. Dit betekent o.a. dat zij hun vitamine A voorraad verliezen en een verhoogde proliferatie laten zien. Bovendien neemt de productie van bindweefsel per cel sterk toe. Dit heeft nadelige gevolgen voor de lever en kan op termijn leiden tot leverfalen en portale hypertensie. Op dit moment is er geen effectieve therapie voor leverfibrose en cirrose, laat staan een therapie die specifiek gericht is op geactiveerde stellaatcellen. Voordeel van een therapie gericht op de geactiveerde stellaatcel is dat deze gebruikt kan worden voor bijna alle chronische leverziekten.

De geactiveerde stellaatcel is buitenwonen goed aangepast aan het "toxische" milieu in de chronisch zieke lever: terwijl de blootstelling aan galzuren, cytokinen en reactieve zuurstofverbindingen in de chronisch zieke lever leidt tot sterfte van de hepatocyten, leidt het juist tot proliferatie van stellaatcellen. De opheldering van de mechanismen van deze ongebruikelijke resistentie tegen celdood kan strategieën opleveren om te interfereren in deze overlevingsmechanismen. Daarom was het belangrijkste doel van dit proefschrift het ontrafelen van de overlevingsmechanismen van geactiveerde stellaatcellen.

**Hoofdstuk 2** beschrijft de expressie, regulatie en functie van Mdr- en Mrp-transporters in geactiveerde stellaatcellen. Mrp- en Mdr-transporters pompen o.a. (toxische) metabolieten van endogene en exogene verbindingen de cel uit.

---

Aan de publicatie van dit proefschrift werd een financiële bijdrage geleverd door de Nederlandse Vereniging voor Hepatologie.

Voor proefschriftsamenvattingen zie:  
[www.hepatologie.org](http://www.hepatologie.org)

Een hoge expressie van deze transporters in cellen is geassocieerd met verhoogde proliferatie en overleving: multi-drug-resistente tumorcellen vertonen vaak een verhoogde expressie van Mdr/Mrp-transporters en ook de lever progenitorcellen hebben een hoge expressie van Mrp-I dat mogelijk deze progenitorcellen in staat stelt te prolifereren tijdens ernstige leverschade. De expressie, regulatie en functie van Mrp/Mdr-transporters in stellaatcellen is echter onbekend. Wij toonden aan dat geactiveerde stellaatcellen met name Mrp1, Mrp3, Mrp4, Mdr1a en Mdr1b tot expressie brengen. Een soortgelijk patroon is waargenomen in progenitor cellen. Bovendien konden wij aantonen dat tijdens activatie van stellaatcellen de expressie van Mrp-I toeneemt. Tenslotte bleek dat Mrp-transporters een belangrijke rol spelen in de resistentie van stellaatcellen tegen celdood: remming van Mrp-transporters induceerde celdood van stellaatcellen.

In **hoofdstuk 3** hebben we de effecten van reactieve zuurstofverbindingen op stellaat cel proliferatie en celdood onderzocht. Reactieve zuurstofverbindingen worden geproduceerd in de chronisch zieke lever door o.a. ontstekingscellen. Wij toonden aan dat zowel waterstofperoxide als superoxide anionen (menadione) niet direct de proliferatie van stellaatcellen stimuleren. Daarnaast toonden wij aan dat waterstofperoxide geen celdood induceert van stellaatcellen, terwijl superoxide anionen caspase-afhankelijke apoptose induceert. Verder laten we zien dat superoxide anionen de intracellulaire concentratie van het anti-oxidant glutathion reduceren, terwijl waterstof peroxide geen effect heeft op de glutathione concentratie. Interessant is dat de superoxide anion (menadione)-geïnduceerde apoptose kan worden tegengegaan door de glutathione spiegel te herstellen.

In een vervolgstudie (**hoofdstuk 4**) laten we zien dat activatie van stellaatcellen gepaard gaat met veranderingen in het anti-oxidant defensie systeem. De glutathion concentratie is ongeveer 6 keer verhoogd in geactiveerde stellaatcellen t.o.v. “rustende” stellaatcellen. Daarnaast is de expressie van het waterstofperoxide-detoxificeerde enzym glutathione peroxidase-I (GPxI) sterk verhoogd in geactiveerde stellaatcellen.

In **hoofdstuk 5** hebben we het effect van de nucleoside analoog ribavirine, een DNA polymerase remmer, onderzocht in een niet-viraal model van leverfibrose. De aanleiding voor deze studie is de bevinding dat ribavirine, bij de behandeling van patiënten met virale hepatitis, soms leidt tot vermindering van de fibrose-score, zonder het hepatitis C virus volledig te klaren. Dat zou er op kunnen wijzen dat ribavirine een anti-fibrotisch effect heeft, onafhankelijk van de antivirale activiteit. Bovendien is bekend dat ribavirine de proliferatie van diverse celtypen kan remmen. Ribavirine blokkeert dosis-afhankelijk de proliferatie van geactiveerde stellaatcellen in vitro. Ook in een niet- viraal model van leverfibrose in de rat (het galgangligatie-model), reduceert ribavirine parameters van fibrose en stellaatcel-activatie, waaronder de expressie van  $\alpha$ -smooth muscle actin, TGF- $\beta$  en het extracellulaire matrix eiwit collageen type I. Onze data suggereren dat ribavirine mogelijk gunstige effecten heeft op de behandeling van niet-virale leverziekten.

Samenvattend kan gezegd worden dat enkele belangrijke mechanismen voor de resistentie van stellaatcellen tegen celdood zijn geïdentificeerd: Mrp-transporters, glutathione status en glutathion-peroxidase expressie. Vervolgstudies zullen moeten laten zien of interferentie in deze mechanismen in proefdiermodellen voor fibrose effectief zijn. ◀

---

Aan de publicatie van dit proefschrift werd een financiële bijdrage geleverd door de Nederlandse Vereniging voor Hepatologie.

Voor proefschriftsamenvattingen zie:  
[www.hepatologie.org](http://www.hepatologie.org)