

University of Groningen

## High mobility group box-1 (hmgb1) in systemic vasculitides

Silva de Souza, Alexandre

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2015

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Silva de Souza, A. (2015). *High mobility group box-1 (hmgb1) in systemic vasculitides: The interplay with active disease, specific organ involvement and therapy*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## CHAPTER 10

# **Nederlandse samenvatting en discussie**

Alexandre Wagner Silva de Souza

Cees G. M. Kallenberg



## Nederlandse samenvatting en discussie (voor leken)

Systemische vasculitiden vormen een heterogene groep van ziekten die gekenmerkt worden door ontsteking van bloedvaten van verschillende aard en grootte. Als gevolg van dit ontstekingsproces treedt beschadiging op van de wand van bloedvaten wat kan leiden tot afsterven van het bloedvat (“fibrinoïde necrose”) en soms tot doorbraak van de wand van het bloedvat wat bloeding in de omgevende weefsels tot gevolg heeft met name wanneer kleine bloedvaten zijn aangedaan (de haarvaten en de kleine aders) [1,2]. Wanneer het ontstekingsproces middelgrote en grote slagaders betreft dan leidt dit proces vaak tot vernauwing en afsluiting van het bloedvat. Deze vernauwing en afsluiting treedt veelal op in zgn musculaire slagaders terwijl in elastische slagaders de vorming van aneurysma’s (plaatselijke verwijding van slagaders) kan optreden. Daarnaast kan bij systemische vasculitis ook ontsteking buiten bloedvaten optreden terwijl het ontstekingsproces ook kan leiden tot algemene symptomen van ontsteking zoals koorts en vermoeidheid [3,4].

Alarmines, ook wel “danger associated molecular patterns (DAMPs)” genoemd, zijn stofjes die kandidaat lijken te zijn om het onderliggende ontstekingsproces te weerspiegelen. Dergelijke stofjes worden dan biomerkers van het ontstekingsproces genoemd. Als zodanig zouden ze van betekenis kunnen zijn voor de diagnose van systemische vasculitis of om de prognose hiervan te bepalen. Alarmines zijn eiwitten met meerdere functies die een belangrijke rol spelen binnen in de cel. Ze kunnen echter ook vrijkomen uit cellen die afsterven of door bepaalde cellen, zoals cellen van het afweersysteem of slijmvliescellen, worden uitgescheiden. Eenmaal buiten de cel activeren deze alarmines cellen van het zgn aangeboren afweersysteem door binding aan receptor-moleculen op deze cellen, zoals de zgn Toll-like receptors (TLRs). De best gekarakteriseerde alarmines zijn de volgende

eiwitten: high mobility group box 1 (HMGB1), de S100 eiwitten en de heat shock proteins (HSPs) [5].

De rol van HMGB1 is uitvoerig onderzocht in systemische ontstekings- en autoimmuunziekten, in kanker, atherosclerose en in sepsis [6-8]. Toen we begonnen met het huidige onderzoek hebben we eerst een literatuuroverzicht geschreven over de rol van HMGB1 bij vaataandoeningen met inbegrip van vasculitis en atherosclerose (**hoofdstuk 2**). Op dat moment waren maar enkele studies bekend waarin transsectioneel de gehalten van HMGB1 in het bloed waren bepaald, met name bij patiënten met ANCA-geassocieerde vasculitis (AAV) [9-11] en bij de ziekte van Kawasaki (KD) [12,13]. Bij AAV werd gevonden dat de gehalten van HMGB1 in het bloed hoger waren bij patiënten met granulomatosis met polyangiitis (GPA) met actieve ziekte dan bij patiënten bij wie de ziekte niet actief was en bij gezonde controles. Bij patiënten met microscopische polyangiitis (MPA) werd echter geen verschil gevonden tussen patiënten met actieve ziekte en patiënten bij wie de ziekte in remissie was en bij gezonde controles [9]. Een andere studie van dezelfde groep onderzoekers liet zien dat de gehalten van HMGB1 hoger waren bij patiënten met GPA die voornamelijk granulomateuze ontstekingen hadden dan bij GPA patiënten die voornamelijk vasculitis hadden. Er werd een positieve correlatie gevonden tussen het gehalte aan HMGB1 in het bloed en de hoeveelheid granulomateus weefsel in de longen [10]. Beide studies maakten gebruik van een ELISA methode om het gehalte aan HMGB1 te meten. Bruchfeld en collega's gebruikten een eigen Western blot techniek om HMGB1 in serum te meten bij patiënten met AAV en zij toonden aan dat patiënten bij wie in het nierbiopt glomerulonefritis aanwezig was het gehalte van HMGB1 in het serum hoger was dan bij patiënten bij wie het nierbiopt geen afwijkingen vertoonde. Bovendien vonden zij dat het gehalte van HMGB1 significant daalde wanneer er een remissie van de ziekte optrad. Hoewel de gehalten van HMGB1 bij patiënten met AAV hoger waren dan bij

gezonde controles, was er geen verschil in deze waarden tussen patiënten met GPA, MPA en eosinofiele granulomatosis met polyangiitis (EGPA) [11].

Bij patiënten met atherosclerotische ziekte is gevonden dat ten tijde van een acute ischemische gebeurtenis (zoals kan optreden in de kransslagaderen of in de hersenvaten) hogere waarden van HMGB1 in het bloed aanwezig zijn dan bij gezonde controles. Bovendien werd gevonden dat hogere waarden van HMGB1 gepaard gingen met een slechte afloop bij patiënten met een acuut coronair syndroom. In atherosclerotische lesies is de expressie van HMGB1 in de kernen en het cytoplasma van macrofagen en gladspiercellen toegenomen in vergelijking met normale slagaders. Bij studies met experimentele modellen van atherosclerose bleek dat HMGB1 niet alleen betrokken is bij de versterking van de ontstekingsreactie maar ook bij de herstelfase na een periode van ischemie [14].

In **hoofdstuk 4** beschrijven wij een longitudinale studie waarbij gehalten van HMGB1 in het bloed van patiënten met AAV gemeten zijn bij het begin van de ziekte, bij het begin van de remissie en wat later in deze fase, en direct voor en tijdens een terugval van de ziekte. In deze zelfde studie hebben wij bij patiënten met AAV gekeken of er ook antistoffen tegen HMGB1 aanwezig waren ten tijde van actieve ziekte. Bij het begin van de ziekte verschilden de waarden van HMGB1 niet tussen patiënten met AAV en gezonde controles. Echter, verhoogde waarden van HMGB1 werden wel gevonden bij patiënten zonder betrokkenheid van de nier bij het vasculitis proces. Tevens werd er een positieve correlatie gevonden tussen de waarden van HMGB1 in het serum en de waarden van het C-reaktieve proteïne (CRP) terwijl er een negatieve relatie bestond tussen deze HMGB1 waarden en de 24-uurs uitscheiding van eiwit in de urine. Slechts 12.5% van de patiënten met AAV hadden antistoffen tegen HMGB1 in het bloed; de gemiddelde hoogte van HMGB1 antistoffen verschilde echter niet tussen de totale groep van AAV patiënten en de gezonde controles [15]. In tegenstelling

196

hiermee hebben patiënten met SLE hogere gehalten van HMGB1 antistoffen in het bloed dan gezonde controles, vooral patiënten met SLE die nierbetrokkenheid hebben [16]. Verder beschrijven wij in dit hoofdstuk dat de waarden van HMGB1 niet stijgen voorafgaande aan een opvlamming van de ziekte en dat veranderingen, met name toename van HMGB1 waarden, niet voorspellend zijn voor de ontwikkeling van een opvlamming. We concluderen daarom dat HMGB1 geen geschikte biomarker is voor de activiteit van het ziekteproces bij AAV en dat nierbetrokkenheid samen gaat met lagere waarden van HMGB1 [15].

In **hoofdstuk 5** onderzochten we of de gehalten van HMGB1 en van de oplosbare receptor voor “advanced glycation end products” (sRAGE) in het serum voorspellende waarde hebben voor de aanwezigheid van subklinische atherosclerose in de halsslagaders bij patiënten met GPA. Vanwege de gevonden associatie tussen hogere HMGB1 gehalten in het serum en subklinische atherosclerose in de kransslagaders bij patiënten met en zonder diabetes in vergelijking met personen zonder afwijkingen aan de kransslagaders [17] veronderstelden wij dat er een associatie zou kunnen zijn tussen de gehalten van HMGB1 en sRAGE in het serum enerzijds en atherosclerose in de halsslagaders anderzijds bij patiënten met GPA. Wij vonden, zoals beschreven in **hoofdstuk 5**, dat er geen verschillen waren tussen patiënten met GPA en gezonde controles voor wat betreft de aanwezigheid van atherosclerotische plaques en de dikte van de intima-media laag (IMT) van de halsslagaders terwijl er ook geen verschillen waren in de gehalten van HMGB1 en sRAGE in het serum. Ten tijde van dit onderzoek waren alle patiënten met GPA in remissie. De gehalten van sRAGE in het serum waren negatief gecorreleerd met de IMT waarden terwijl er geen correlatie bestond tussen de gehalten van HMGB1 in het serum en het aanwezig zijn van subklinische atherosclerose in de halsslagaders. Patiënten met GPA die statines of prednisolon gebruikten hadden significant

lagere waarden van HMGB1 in het serum dan patiënten die deze geneesmiddelen niet gebruikten.

Statines hebben ontstekingsremmende eigenschappen aangezien zij de ontstekingsbevorderende effecten van cytokines op endotheelcellen tegen gaan [19]. Bovendien is gebleken dat het gebruik van statines leidt tot lagere gehalten van HMGB1 in experimentele modellen van atherosclerose en bij patiënten met hyperlipidemie [20,21]. Daarom hebben wij in **hoofdstuk 5** tevens onderzocht of atorvastatine, een veel gebruikt statine, het vrijkomen van HMGB1 uit endotheelcellen van menselijke navelstrengaders (HUVEC) die geactiveerd worden met lipopolysaccharide (LPS) kan tegen gaan. LPS leidde tot een langzaam vrijkomen van HMGB1 uit HUVEC met een maximum na 24 uur. We bepaalden ook de waarden van interleukine (IL)-8 in de bovenstaande vloeistof van de endotheel kweken om er zeker van te zijn dat de endotheelcellen inderdaad geactiveerd zijn door LPS. Wanneer we de HUVEC voorafgaande aan de activatie met LPS incubeerden met atorvastatine dan waren de gehalten van HMGB1 en IL-8 lager in de bovenstaande vloeistof. We concludeerden hieruit dat, hoewel er geen relatie werd gevonden tussen de gehalten in het serum van HMGB1 en het aanwezig zijn van atherosclerose in de halsslagaders bij patiënten met GPA, het gebruik van statines invloed heeft op de gehalten van HMGB1 in het serum en op het vrijkomen van HMGB1 uit geactiveerde endotheelcellen. Deze bevindingen doen vermoeden dat statines additionele ontstekingsremmende effecten hebben [18].

Een ander aspect van de rol van HMGB1 als biomerker in AAV is het aantonen van HMGB1 in de urine van patiënten met AAV die een actieve nierontsteking hebben. In **hoofdstuk 4** beschrijven we dat de gehalten van HMGB1 in het serum van patiënten met AAV en actieve nierontsteking ten tijde van de presentatie van hun ziekte niet verschilden van de gehalten bij gezonde controles terwijl de patiënten met AAV zonder activiteit van de ziekte

198



in de nieren hogere gehalten van HMGB1 in hun serum hadden dan gezonde controles [15]. We veronderstelden dat dit mogelijk het resultaat is van verlies van HMGB1 in de urine bij patiënten met activiteit van de ziekte in de nieren wat zou leiden tot lagere gehalten in het serum in vergelijking met patiënten zonder activiteit van de ziekte in de nieren. Een recent beschreven onderzoek van onze groep heeft laten zien dat patiënten met SLE die activiteit van de ziekte in de nieren hebben hogere gehalten van HMGB1 in de urine hebben dan SLE patiënten zonder actieve nierziekte en gezonde controles [22]. Daarom besloten we ook bij patiënten met AAV de gehalten van HMGB1 in de urine te meten en de resultaten hiervan staan beschreven in **hoofdstuk 6**. Bovendien onderzochten we, naast de gehalten van HMGB1 in de urine, de aantallen van CD4-positieve T-cellen en CD4-positieve effector geheugen T-cellen in het perifere bloed en in de urine bij deze patiënten. Dit deden we aangezien eerdere studies effecten hebben laten zien van HMGB1 op de proliferatie en polarisatie van T-cellen terwijl een recente studie van onze groep aantoonde dat het aantal CD4-positieve effector geheugen T-cellen toegenomen is in de urine van patiënten met AAV en actieve ziekte in de nieren in vergelijking met patiënten bij wie de ziekte rustig was en patiënten bij wie de nieren niet mee deden in het ziekteproces [14,23].

Allereerst hebben we een overzichtsartikel geschreven over de rol van mononucleaire cellen, in het bijzonder CD4-positieve effector geheugen T-cellen, in de pathogenese van AAV wat weergegeven is in **hoofdstuk 3** [24]. Bij GPA wordt een expansie gezien van CD4-positieve T-cellen binnen de populatie van effector geheugen T-cellen en de meerderheid van de T-cellen die aanwezig zijn in de longen en de glomeruli van de nieren vertonen het fenotype van geheugen cellen. Echter, ten tijde van actieve ziekte is er een afname van deze CD4-positieve effector geheugen cellen in het bloed wat het gevolg kan zijn van migratie van deze cellen naar de zieke weefsels [24].

In **hoofdstuk 6** beschrijven we de resultaten van onderzoek naar de gehalten van HMGB1 en de aantallen CD4-positieve T-cellen en CD4-positieve effector geheugen T-cellen in bloed en urine alsmede het gehalte van monocyten-chemoattractant eiwit-1 (MCP-1) in de urine bij patiënten met AAV en actieve ziekte in de nieren. We vergeleken deze waarden met de waarden bij gezonde controles en bij een aantal van deze patiënten ook ten tijde van rustige ziekte (gemiddeld 36.2 maanden na het moment van actieve ziekte). De gehalten van HMGB1 in de urine waren hoger bij patiënten met actieve nierontsteking dan bij gezonde controles. Bovendien daalden de waarden wanneer de ziekte rustig werd. Er werden geen associaties gevonden tussen de voor de verdunning gecorrigeerde waarde van HMGB1 in de urine (ratio van HMGB1 en kreatinine in de urine) enerzijds en het gehalte van HMGB1 in het serum, de activiteit van de ziekte (gemeten als de zogenaamde Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS), de 24-uurs uitscheiding van eiwit in de urine en de glomerulaire filtratie snelheid (GFR) anderzijds. De waarden van MCP-1 in de urine waren ook hoger bij patiënten met actieve nierziekte in vergelijking met gezonde controles en deze waarden daalden significant wanneer de ziekte rustig werd. In tegenstelling tot HMGB1 was de voor de verdunning gecorrigeerde waarde van MCP-1 in de urine (ratio van MCP-1 en kreatinine) wel geassocieerd met de activiteit van de ziekte (BVAS), maar niet met de voor de verdunning gecorrigeerde waarden van de aantallen CD4-positieve T-cellen en CD4-positieve effector geheugen T-cellen in de urine [25].

Ook bij patiënten met vasculitis van de grote vaten (LVV), met name bij patiënten met Takayasu arteritis (TA) en reuscel arteritis (GCA) onderzochten wij de gehalten van HMGB1 in het serum zoals beschreven in **hoofdstuk 7**. Deze studie werd zowel in Brazilië als in Nederland verricht aangezien TA meer in Brazilië voorkomt en GCA meer in Nederland. De patiënten met GCA in deze studie kwamen uit Nederland en de patiënten met TA uit Brazilië. De

patiënten met GCA werden onderzocht bij het begin van hun ziekte (voordat begonnen was met behandeling met corticosteroiden), 3 en 12 maanden na het begin van de ziekte, en tijdens een terugval van de ziekte. De gehalten van HMGB1 bij het begin van de ziekte verschilden niet van die bij gezonde controles (van dezelfde leeftijd en geslacht) en ook in het beloop van de ziekte werden geen verschuivingen in de waarden waargenomen. Er werd geen associatie gevonden tussen de waarden van HMGB1 en die van de acute fase eiwitten. Ook werd er geen associatie gevonden tussen de gehalten van HMGB1 en de aanwezigheid van polymyalgia rheumatica, systemische manifestaties van de ziekte en het al of niet terugvallen van de ziekte.

Bij patiënten met TA onderzochten we sera in een transsectionele studie. Er bestond geen verschil in de waarden van HMGB1 tussen patiënten met actieve ziekte, patiënten in remissie en gezonde controles. Patiënten met TA die statines gebruikten hadden significant lagere waarden van HMGB1 in hun serum in vergelijking met patiënten die geen statines gebruikten. Er bestonden geen associaties tussen de gehalten van HMGB1 in het serum enerzijds en de gehalten aan acute fase eiwitten, de mate van activiteit van de ziekte, de aanwezigheid van voorgaande ischemische gebeurtenissen, en het gebruik van geneesmiddelen zoals prednison en zgn biologics. Lineaire regressie analyse liet zien dat het gebruik van statines onafhankelijk geassocieerd was met lagere gehalten van HMGB1 in het serum. Deze effecten van statines op de gehalten van HMGB1 zijn eerder waargenomen bij patiënten met GPA (**hoofdstuk 5**), patiënten met hyperlipidemie en in een experimenteel model van atherosclerose [18,20,21]. Met betrekking tot de activiteit van de ziekte bij patiënten met TA bleek in een lineaire regressie analyse dat de activiteit van de ziekte geassocieerd was met de zgn Indian Takayasu Clinical Activity Score (ITAS-2010) en met de waarden van de bezinkingssnelheid van het bloed (ESR), maar niet met de waarden van CRP

of die van HMGB1 in het serum. Bij multivariatie logistische regressie analyse bleek uitsluitend de ITAS-2010 score onafhankelijk geassocieerd te zijn met de activiteit van de ziekte bij patiënten met TA.

De waarden van HMGB1 in het serum waren significant hoger bij patiënten met GCA bij het begin van de ziekte dan bij patiënten met TA ten tijde van actieve ziekte. Zelfs wanneer alleen patiënten met GCA en TA die statines gebruikten met elkaar vergeleken werden, bleven de waarden van HMGB1 in het serum hoger bij patiënten met GCA. Het zou kunnen zijn dat dit verschil wijst op een invloed van de leeftijd op het gehalte van HMGB1 aangezien de patiënten met GCA significant ouder zijn dan de patiënten met TA.

In **hoofdstuk 8** beschrijven we ons onderzoek naar de waarden van HMGB1 in het serum van patiënten met de ziekte van Behcet (BD), een vorm van vasculitis waarbij de grootte van de aangedane vaten varieert [26]. Patiënten met BD bleken significant hogere waarden van HMGB1 in het serum te hebben dan gezonde controles. Er werd echter geen verschil gevonden tussen patiënten met actieve ziekte en patiënten in remissie. Er was ook geen correlatie tussen de waarden van HMGB1 in het serum en de activiteit van de ziekte gemeten met de vereenvoudigde Braziliaanse versie van de zgn Behcet's disease current activity form (BR-BDCAFs), een gevalideerd instrument om de activiteit van de ziekte van Behcet te meten. Ook werd er geen associatie gevonden tussen de gehalten van HMGB1 en specifieke manifestaties van BD of de wijze van behandeling.

Tijdens het onderzoek dat beschreven is in dit proefschrift zijn twee studies gepubliceerd waarin HMGB1 is gemeten bij patiënten met vasculitis [27,28]. In een studie betroffen dit patiënten AAV en in de andere studie patiënten met IgA-vasculitis. In de eerste studie werden de waarden van HMGB1 gerapporteerd bij patiënten met GPA en MPA uit China [27]. De

waarden van HMGB1 in plasma waren hoger bij patiënten met AAV en actieve ziekte dan bij patiënten in remissie en bij gezonde controles. Een significante maar zwakke correlatie werd gevonden tussen de gehalten van HMGB1 in het plasma enerzijds en de waarden van CRP, BVAS, het serum kreatinine gehalte en de geschatte glomerulaire filtratie snelheid anderzijds. In deze studie werden tevens aanwijzingen gevonden dat de gehalten van HMGB1 geassocieerd waren met de aanwezigheid van granulomateuze manifestaties van de ziekte aangezien patiënten met AAV en PR3-ANCA hogere gehalten van HMGB1 hadden dan patiënten met AAV en MPO-ANCA; dit was onafhankelijk van de waarden van kreatinine in het serum. Na intraveneuze of orale behandeling met cyclofosfamide daalden de waarden van HMGB1 significant [27].

De gehalten van HMGB1 in het serum bleken in de andere studie hoger bij patiënten met IgA-vasculitis, patiënten met allergische vasculitis en patiënten met urticariele vasculitis dan bij gezonde controles. Endotheelcellen in de aangedane huid bij patiënten met IgA-vasculitis lieten een overvloedige expressie van HMGB1 in het cytoplasma zien. Stimulatie van een humane microdermale endotheelcellijn met recombinant HMGB1 resulteerde in een toename van de uitscheiding van TNF $\alpha$  en IL-6 in de bovenstaande vloeistof [28].

## **Conclusies**

Gehalten van HMGB1 in het serum zijn geen betrouwbare biomarker om de activiteit van de ziekte vast te stellen bij patiënten met verschillende vormen van vasculitis zoals AAV en LVV. Bij patiënten met AAV worden de serum spiegels van HMGB1 in belangrijke mate beïnvloed door de aanwezigheid van granulomateuze ontsteking terwijl patiënten met actieve

nierontsteking hogere waarden van HMGB1 in de urine laten zien die correleren met de aantallen CD4-positieve T-cellen en CD4-positieve effector geheugen T-cellen in de urine maar niet met de waarden van MCP-1 in de urine. Het bereiken van remissie leidt tot een significante daling van de waarden van HMGB1 in de urine. Bij patiënten met GPA in remissie en bij patiënten met TA dalen de waarden van HMGB1 in het serum onder therapie, waaronder het gebruik van statines. Atorvastatine verhindert het vrijkomen van HMGB1 uit HUVEC die gestimuleerd worden met LPS. Bij patiënten met BD zijn de waarden van HMGB1 in het serum hoger dan bij gezonde controles onafhankelijk van de mate van ziekte.

### **Toekomstig onderzoek**

HMGB1 speelt inderdaad een rol bij verschillende pathologische processen met inbegrip van sepsis en steriele ontsteking [6]. Er ontbreekt echter nog veel kennis over de invloed van verschillende post-translationale factoren op zijn functies, met inbegrip van de redox-status van HMGB1, de mate van acetylering en het samengaan met andere moleculen [7]. Verschillende in vitro en in vivo experimentele studies hebben laten zien dat remming van HMGB1 een potentieel therapeutische benadering kan zijn in de toekomst [6-8].

Het bewijs dat het gebruik van statines een potentiële therapie kan zijn om het gehalte van HMGB1 bij patienten met atherosclerosis te doen dalen kwam aanvankelijk uit in vitro studies die lieten zien dat fluvastatine de expressie van intracellulair HMGB1 kon laten afnemen in een monocytelymfocoom cellijn (U937) die gestimuleerd werd met een hyperlipidemisch serum [20]. Het vrijkomen van HMGB1 in het supernatant van humaan navelstreng endotheel (HUVEC) geactiveerd door LPS werd ook

tegengegaan door atorvastatine. Deze bevindingen werden bevestigd in een in vivo model van hyperlipidemie in Syrische hamsters waarbij fluvastatine resulteerde in een daling van het serum HMGB1 gehalte, terwijl ook bij patienten met hyperlipidemie en patienten met GPA behandeling met statines een daling van het serum HMGB1 gehalte liet zien [18,20]. Er zijn echter geen data beschikbaar vanuit klinische trials die bewijzen dat afname van het gehalte aan HMGB1 ook leidt tot een afname van cardiovasculaire accidenten.

Metformine is een ander middel dat het vrijkomen van HMGB1 uit een met LPS gestimuleerde macrofagen cellijn (RAW 264.7) in vitro doet tegengaan. Metformine verhindert de translocatie van HMGB1 vanuit de kern naar het cytoplasma en leidt daardoor ook tot een afname van de extracellulaire hoeveelheid HMGB1 [29]. Bovendien gaat metformine ook de door hyperglycemie geïnduceerde expressie van HMGB1 in cardiomyocyten tegen op een dosis-afhankelijke wijze en beschermt zodoende tegen beschadiging van deze cellen tijdens verhoogde glucose spiegels [30]. Er zijn echter nog geen dierexperimentele of humane studies beschreven die laten zien dat metformine het serum gehalte van HMGB1 doet afnemen en dat deze afname klinisch van voordeel is.

Behandeling gericht op HMGB1 heeft echter wel therapeutische effecten laten zien in verschillende diermodellen [6-8]. Neutraliserende antilichamen tegen HMGB1 en het recombinante A box domein van HMGB1 zijn de meest gebruikte antagonisten van HMGB1 in diermodellen terwijl in enkele studies ook antistoffen tegen RAGE en thrombomoduline gebruikt zijn (tabel 1) [8]. Deze agentia zijn echter nog niet getest op effectiviteit en veiligheid in humane studies.

Tabel 1 - Experimentele modellen van een behandeling gericht op HMGB1 [overgenomen uit referentie 8].

<b>Model</b>	<b>Agentia</b>
Artritis	Anti-HMGB1 antistoffen Thrombomoduline Recombinant HMGB1 A box
Neuropathische pijn	Anti-HMGB1 antistoffen
Endotoxemie	Anti-HMGB1 antistoffen Thrombomoduline
Sepsis	Anti-HMGB1 antistoffen Recombinant HMGB1 A box Anti-RAGE antistoffen
Pancreatitis	Anti-HMGB1 antistoffen Recombinant HMGB1 A box
Colitis	Anti-HMGB1 antistoffen
Hemorrhagische shock	Anti-HMGB1 antistoffen
Stroke	Anti-HMGB1 antistoffen Recombinant HMGB1 A box
Epilepsie	Recombinant HMGB1 A box
Ischemie-reperfusie schade	Anti-HMGB1 antistoffen Recombinant HMGB1 A box
Atherosclerose	Anti-HMGB1 antistoffen
Myocard infarct	Anti-HMGB1 antistoffen Recombinant HMGB1 A box
Transplantatie	Anti-HMGB1 antistoffen Recombinant HMGB1 A box
Respiratoire ziektes	Anti-HMGB1 antistoffen Recombinant HMGB1 A box
Paracetamol geïnduceerde leverschade	Anti-HMGB1 antistoffen

HMGB1-high mobility group box-1; RAGE-receptor for advanced glycation end products.



Bij systemische vasculitiden zou remming van HMGB1 van belang kunnen zijn in de volgende situaties: granulomateuze ontsteking bij GPA, nierbetrokkenheid bij AAV, in de acute fase van KD, bij IgA vasculitis en bij patiënten met BD. Allereerst moeten echter pre-klinische studies worden verricht met HMGB1 antagonisten (zoals neutraliserende antistoffen tegen HMGB1 en het recombinante A box domein van HMGB1) in diermodellen van PR3-ANCA en MPO-ANCA geassocieerde vasculitis teneinde na te gaan of remming van extracellulair HMGB1 inderdaad een klinisch effect heeft. Fase 1 studies zijn vervolgens nodig om de veiligheid van deze middelen te waarborgen met daarna fase 2 en fase 3 studies om de optimale dosis nodig om de ziekte activiteit te controleren vast te stellen. Van agentia die het vrijkomen van HMGB1 uit cellen verhinderen zoals statines en metformine kan dan in diermodellen van PR3-ANCA en MPO-ANCA geassocieerde vasculitis worden vastgesteld of deze middelen enig effect hebben op de ziekte activiteit. Tenslotte moet worden nagegaan of het chronisch gebruik van dergelijke middelen van nut is om verschillende vormen van vasculitis in remissie te houden.

## Referenties

1. Jennette JC, Falk RJ. Small-vessel vasculitis. *N Engl J Med.* 1997;337:1512-23.
2. Watts RA, Scott DG. Recent developments in the classification and assessment of vasculitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2009;23:429-43.
3. Guillevin L, Dörner T. Vasculitis: mechanisms involved and clinical manifestations. *Arthritis Res Ther.* 2007;9 Suppl 2:S9.
4. Weyand CM, Goronzy JJ. Medium- and large-vessel vasculitis. *N Engl J Med.* 2003;349:160-9.
5. Chan JK, Roth J, Oppenheim JJ, Tracey KJ, Vogl T, Feldmann M, Horwood N, Nanchahal J. Alarmins: awaiting a clinical response. *J Clin Invest.* 2012;122:2711-9.
6. Sims GP, Rowe DC, Rietdijk ST, Herbst R, Coyle AJ. HMGB1 and RAGE in inflammation and cancer. *Annu Rev Immunol.* 2010;28:367-88.

7. Magna M, Pisetsky DS. The role of HMGB1 in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases. *Mol Med*. 2014 Mar 24;20:138-46.
8. Harris HE, Andersson U, Pisetsky DS. HMGB1: a multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8:195-202.
9. Wibisono D, Csernok E, Lamprecht P, Holle JU, Gross WL, Moosig F. Serum HMGB1 levels are increased in active Wegener's granulomatosis and differentiate between active forms of ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69:1888-9.
10. Henes FO, Chen Y, Bley TA, Fabel M, Both M, Herrmann K, Csernok E, Gross WL, Moosig F. Correlation of serum level of high mobility group box 1 with the burden of granulomatous inflammation in granulomatosis with polyangiitis (Wegener's). *Ann Rheum Dis*. 2011;70:1926-9.
11. Bruchfeld A, Wendt M, Bratt J, Qureshi AR, Chavan S, Tracey KJ, Palmblad K, Gunnarsson I. High-mobility group box-1 protein (HMGB1) is increased in antineutrophilic cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis with renal manifestations. *Mol Med*. 2011;17:29-35.
12. Eguchi T, Nomura Y, Hashiguchi T, Masuda K, Arata M, Hazeki D, Ueno K, Nishi J, Kawano Y, Maruyama I. An elevated value of high mobility group box 1 is a potential marker for poor response to high-dose of intravenous immunoglobulin treatment in patients with Kawasaki syndrome. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:339-41.
13. Hoshina T, Kusuhara K, Ikeda K, Mizuno Y, Saito M, Hara T. High mobility group box 1 (HMGB1) and macrophage migration inhibitory factor (MIF) in Kawasaki disease. *Scand J Rheumatol*. 2008;37:445-9.
14. de Souza AW, Westra J, Limburg PC, Bijl M, Kallenberg CG. HMGB1 in vascular diseases: Its role in vascular inflammation and atherosclerosis. *Autoimmun Rev*. 2012;11:909-17.
15. de Souza A, Westra J, Bijzet J, Limburg PC, Stegeman CA, Bijl M, Kallenberg CG. Is serum HMGB1 a biomarker in ANCA-associated vasculitis? *Arthritis Res Ther*. 2013;15:R104.
16. Abdulahad DA, Westra J, Bijzet J, Limburg PC, Kallenberg CG, Bijl M. High mobility group box 1 (HMGB1) and anti-HMGB1 antibodies and their relation to disease characteristics in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2011;13:R71.

17. Yan XX, Lu L, Peng WH, Wang LJ, Zhang Q, Zhang RY, Chen QJ, Shen WF. Increased serum HMGB1 level is associated with coronary artery disease in nondiabetic and type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*. 2009;205:544-8.
18. Souza AW, de Leeuw K, van Timmeren MM, Limburg PC, Stegeman CA, Bijl M, Westra J, Kallenberg CG. Impact of serum high mobility group box 1 and soluble receptor for advanced glycation end-products on subclinical atherosclerosis in patients with granulomatosis with polyangiitis. *PLoS One*. 2014;9(4):e96067.
19. Hot A, Lavocat F, Lenief V, Miossec P. Simvastatin inhibits the pro-inflammatory and pro-thrombotic effects of IL-17 and TNF- $\alpha$  on endothelial cells. *Ann Rheum Dis*. 2013;72:754-60.
20. Haraba R, Suica VI, Uyy E, Ivan L, Antohe F. Hyperlipidemia stimulates the extracellular release of the nuclear high mobility group box 1 protein. *Cell Tissue Res*. 2011;346:361-8.
21. Jin D, Wu Y, Zhao L, Guo J, Zhang K, Chen Z. Atorvastatin reduces serum HMGB1 levels in patients with hyperlipidemia. *Exp Ther Med*. 2012;4:1124-1126.
22. Abdulahad DA, Westra J, Bijzet J, Dolff S, van Dijk MC, Limburg PC, Kallenberg CG, Bijl M. Urine levels of HMGB1 in Systemic Lupus Erythematosus patients with and without renal manifestations. *Arthritis Res Ther*. 2012;14:R184.
23. Abdulahad WH, Kallenberg CG, Limburg PC, Stegeman CA. Urinary CD4+ effector memory T cells reflect renal disease activity in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Rheum*. 2009;60:2830-8.
24. Abdulahad WH, De Souza AW, Kallenberg CG. L3. Are mononuclear cells predominant actors of endothelial damage in vasculitis? *Presse Med*. 2013;42(4 Pt 2):499-503.
25. de Souza AW, Abdulahad WH, Sosicka P, Bijzet J, Limburg PC, Stegeman CA, Bijl M, Westra J, Kallenberg CG. Are urinary levels of high mobility group box 1 markers of active nephritis in antineutrophil cytoplasmic antibody – associated vasculitis? *Clin Exp Immunol*. 2014;178:270-8.
26. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, Flores-Suarez LF, Gross WL, Guillevin L, Hagen EC, Hoffman GS, Jayne DR, Kallenberg CG, Lamprecht P, Langford CA, Luqmani RA, Mahr AD, Matteson EL, Merkel PA, Ozen S, Pusey CD, Rasmussen N, Rees AJ, Scott DG, Specks U, Stone JH, Takahashi K,

Watts RA. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2013;65:1-11.

27. Wang C, Gou SJ, Chang DY, Yu F, Zhao MH, Chen M. Association of circulating level of high mobility group box 1 with disease activity in antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated vasculitis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2013;65:1828-34.

28. Chen T, Guo ZP, Wang WJ, Qin S, Cao N, Li MM. Increased serum HMGB1 levels in patients with Henoch-Schönlein purpura. *Exp Dermatol.* 2014;23:419-23.

29. Tsoyi K, Jang HJ, Nizamutdinova IT, Kim YM, Lee YS, Kim HJ, Seo HG, Lee JH, Chang KC. Metformin inhibits HMGB1 release in LPS-treated RAW 264.7 cells and increases survival rate of endotoxaemic mice. *Br J Pharmacol.* 2011;162:1498-508.

30. Zhang T, Hu X, Cai Y, Yi B, Wen Z. Metformin protects against hyperglycemia-induced cardiomyocytes injury by inhibiting the expressions of receptor for advanced glycation end products and high mobility group box 1 protein. *Mol Biol Rep.* 2014;41:1335-40.

