

The impact of smoking-associated aldehyde exposure on the molecular regulation of mitochondrial function in epithelial cells of the airways and lungs

Citation for published version (APA):

Tulen, C. B. M. (2023). *The impact of smoking-associated aldehyde exposure on the molecular regulation of mitochondrial function in epithelial cells of the airways and lungs: implications for COPD*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20230420ct>

Document status and date:

Published: 01/01/2023

DOI:

[10.26481/dis.20230420ct](https://doi.org/10.26481/dis.20230420ct)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Download date: 29 Apr. 2024

Nederlandse samenvatting

Wereldwijde tabak epidemie

Het roken van tabak heeft een desastreuze invloed op de gezondheid en daarmee een significante impact op de maatschappij wereldwijd. Hoewel het al tientallen jaren bekend is dat roken schadelijk is voor de gezondheid en sterfte- en ziektelast als gevolg van sigarettenrook voorkomen zouden kunnen worden, rookt momenteel nog steeds 22.3% van de wereldbevolking.

Roken van sigaretten is de meest voorkomende vorm van tabak consumptie. Gedurende de verbranding van tabak worden meer dan 6000 chemische componenten gevormd, waaronder verschillende reactieve aldehyden. De korte-keten aldehyden: acroleïne, acetaldehyde en formaldehyde behoren tot de meest respiratoir toxische stoffen aanwezig in sigarettenrook.

De afgelopen decennia zijn er verschillende maatregelen geïnitieerd door de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) Framework Convention on Tobacco Control (FCTC) en de WHO Study Group on Tobacco Product Regulation (TobReg) om de tabak epidemie aan te pakken. Naast de focus op preventie van starten met roken, bevordering van stoppen met roken en bescherming tegen blootstelling aan tweedehands tabaksrook, erkennen zij ook de urgentie van de toekomstige regulering van inhoud en samenstelling van tabaksproducten zoals beschreven in de artikelen 9 en 10 van WHO FCTC. Deze artikelen richten zich op het verminderen van de aantrekkelijkheid, mate van verslaving en toxiciteit van tabaksproducten. Momenteel zijn alleen de stoffen nicotine, teer en koolstofmonoxide gereguleerd, en staan onder andere de aldehyden: acroleïne, acetaldehyde, formaldehyde op de lijst voor potentiële regulering in sigarettenrook.

Mitochondriële dysfunctie in epitheelcellen van de longen en luchtwegen

Blootstelling aan sigarettenrook is een van de voornaamste risicofactoren voor het ontwikkelen van chronische obstructieve long ziekte (COPD). COPD is belangrijke doodsoorzaak wereldwijd. Echter, de onderliggende moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de pathogenese van de multifactoriële ziekte COPD zijn niet volledig bekend. Naast de belangrijke rol van inflammatie, oxidatieve stress en remodeleren van de luchtwegwand, suggereert recente literatuur betrokkenheid van mitochondriële dysfunctie in de pathogenese van COPD. Adequate functie van mitochondria is essentieel voor het functioneren van de longcellen, aangezien mitochondria zowel noodzakelijk zijn voor de energieproductie alsook betrokken zijn in het controleren van cellulaire processen zoals inflammatie, oxidatieve stress en celdood. Mitochondriële homeostase is hierbij afhankelijk van dynamische processen,

zoals de aanmaak van nieuwe mitochondria (mitochondriële biogenese), de afbraak van beschadigde of dysfunctionele mitochondria (mitofagie) en de flux van fusie of splijting van mitochondria. Enkele studies rapporteren afwijkingen in mitochondriële morfologie en mitochondriële functie in luchtwegcellen of in longweefsel van COPD-patiënten, en daarnaast ook in respons op sigarettenrook in verschillende *in vitro* en *in vivo* modellen. Bovendien is een causaal verband tussen mitochondriële dysfunctie en de ontwikkeling van COPD reeds aangetoond in een muis model. In deze studie toonden de onderzoekers aan dat het voorkomen van dysfunctie van de mitochondriën in een muismodel van rook-geïnduceerd COPD tot gevolg had dat de ernst van emfyseem en bronchitis afnamen. Echter ontbreekt kennis met betrekking tot welke moleculaire mechanismen ten grondslag liggen aan de rook-geïnduceerde mitochondriële dysfunctie (in de longen en luchtwegen van COPD patiënten) en daarnaast is het onbekend welke stoffen in sigarettenrook verantwoordelijk zijn voor de mitochondriële dysfunctie.

Aangezien sigarettenrook bestaat uit een mengsel van duizenden chemische stoffen, is het momenteel onbekend welke exacte componenten de veroorzakers zijn van mitochondriële schade geïnduceerd door sigarettenrook. De aldehyden worden aangewezen als mogelijke kritische stoffen in sigarettenrook. Dit wordt ondersteund door enkele *in vitro* studies waarin longcellen werden blootgesteld aan individuele aldehyden (voornamelijk longepitheel cellijnen blootgesteld aan acroleïne), wat leidde tot verstoring van processen betrokken bij mitochondriële homeostase. Echter, uitgebreid onderzoek naar de impact van aldehyden op de regulatie van de essentiële regulatoren betrokken bij aanmaak en afbraak van mitochondria, fusie en splijting van mitochondriën en mitochondrieel metabolisme in geavanceerde *in vitro* modellen (primaire culturen) en *in vivo* modellen ontbreekt in de huidige literatuur. Bovendien is aanvullend wetenschappelijk bewijs vereist om de wettelijke regulering (verlaging) van de aldehyden acetaldehyde, acroleïne en formaldehyde in sigarettenrook te onderbouwen. Dit proefschrift heeft als doel om hieraan bij te dragen door middel van het ontrafelen van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan mitochondriële dysfunctie in (epitheel) cellen van de longen en luchtwegen in reactie op blootstelling aan aldehyden.

In dit proefschrift werd daarom de volgende hypothese onderzocht: aldehyden aanwezig in sigarettenrook verstoren de moleculaire regulatie van mitochondriële functie in epitheelcellen van de longen en luchtwegen wat bijdraagt aan het risico op COPD. Om deze hypothese te onderzoeken hebben wij verschillende experimentele modellen gebruikt: 1) perifere longweefsel van COPD patiënten, 2) primaire kweken van humane bronchiale epitheelcellen van COPD patiënten en non-COPD patiënten (*in vitro*) en 3) diermodellen (*in vivo*). Deze modellen verschillen in blootstelling met betrekking tot sigarettenrook en aldehyden (mix van aldehyden of acroleïne), blootstellingsduur (acuut *versus* sub-acuut), type blootstelling (gas of extract, mengsel *versus* individuele chemische stof), blootstellingsroute, en dosimetrie. In deze modellen

werd onder andere de regulatie van mitochondriële biogenese en afbraak (mitofagie) onderzocht door middel van analyse van de expressie van genen en eiwitten die hierbij betrokken zijn en daarnaast ook het aantal kopieën mitochondrieel DNA (i.e., maat voor mitochondriële content) en activiteit van enzymen betrokken in metabole processen.

Verstoringsen in de moleculaire regulatie van mitochondriële biogenese en mitofagie in perifeer longweefsel van COPD-patiënten

In aanvulling op de huidige literatuur is onderzoek nodig om te analyseren hoe moleculaire regulatoren van mitochondriële biogenese en mitofagie verstoord zijn in longcellen van COPD patiënten. Bovendien dient te worden onderzocht of de regulatie van deze moleculaire processen verschilt in diverse regio's van de long, bijvoorbeeld in perifeer longweefsel *versus* bronchiale epitheelcellen. Daarom werd in **hoofdstuk 2** gen- en eiwitexpressie onderzocht van moleculen betrokken bij deze processen (o.a. biogenese en afbraak van mitochondriën, fusie en slijting) in perifeer longweefsel van COPD patiënten in verschillende stadia van het ziekteproces en in (on) gedifferentieerde primaire bronchiale epitheelcellen van COPD en non-COPD patiënten. Een verlaagde mRNA expressie van regulatoren betrokken bij mitochondriële biogenese werd aangetoond in perifeer longweefsel van zeer ernstig zieke COPD patiënten, wat positief gecorreleerd bleek met long functie parameters. Daarentegen waren mRNA levels van transcriptie factor *TFAM* (biogenese) en *BNIP3L* (mitofagie) verhoogd in patiënten met zeer ernstige COPD, hetgeen negatief correleerde met longfunctie. Deze veranderingen werden echter niet geobserveerd op eiwit niveau of in primaire bronchiale epitheelcellen.

Toekomstig onderzoek zal moeten uitwijzen of deze veranderingen significant bijdragen aan de pathogenese van COPD, ten grondslag liggen aan veranderingen in mitochondriële functie of eventueel compensatiemechanismen zijn.

Deregulatie van mitochondrieel metabolisme na sigaretten-rook blootstelling in verschillende humane bronchiale epitheelcel modellen

Aangezien het niet volledig duidelijk is hoe sigarettenrook de moleculaire regulatie van mitochondrieel metabolisme en processen die daar bij betrokken zijn beïnvloedt in de bronchiale epitheelcellen van de luchtwegen, hebben wij dit in **hoofdstuk 3** onderzocht.

Vier verschillende experimentele modellen van blootstelling aan sigarettenrook of sigarettenrook extract (beiden gemaakt van Kentucky 3R4F referentie sigaretten)

werden gebruikt. (1) gedifferentieerde primaire bronchiale epitheelcellen gekweekt op air-liquid interface werden acuut blootgesteld aan sigarettenrook, (2) primaire bronchiale epitheelcellen gekweekt op air-liquid interface werden chronisch blootgesteld aan sigarettenrook tijdens differentiatie gevolgd door het stoppen van de blootstelling, (3) ongedifferentieerde primaire bronchiale epitheelcellen submerged gekweekt werden acuut blootgesteld aan sigarettenrook en (4) ongedifferentieerde primaire bronchiale epitheelcellen submerged gekweekt werden blootgesteld aan sigarettenrook extract. Deze modellen reflecteren verschillende typen en/of stadia van schade aan het bronchiaal epithelium, relevant om de respons op blootstelling aan respiratoir toxische stoffen te bestuderen. De gedifferentieerde primaire bronchiale epitheelcel culturen reflecteren een intact pseudo-gestratificeerd epithelium (inclusief basale cellen, secretoire club cellen en trilhaarcellen), terwijl ongedifferentieerde primaire bronchiale epitheelcel culturen bestaan uit basale cel typen wat overeenkomt met een beschadigde, gedeeltelijk 'ontmaskerde/onbeschermde' epitheel laag. Herstel van het bronchiaal epitheel werd onderzocht in het model waarin chronische sigarettenrook blootstelling tijdens differentiatie van de primaire bronchiale epitheelcellen werd gevolgd door stopzetten van de blootstelling. Bovendien werden deze modellen verschillend blootgesteld: sigarettenrook (inclusief componenten aanwezig in de verschillende fases: gas en deeltjes) *versus* waterig sigarettenrook extract (zonder vluchtige componenten).

Eiwit- en transcriptniveaus evenals enzymactiviteit van essentiële moleculen die betrokken zijn bij de regulatie van mitochondriële biogenese, mitofagie, fusie- en splijting van mitochondria en mitochondriël energiemetabolisme werden in deze modellen bestudeerd. Verhoging van de gen- en eiwitexpressie van moleculen die geassocieerd worden met autofagie en receptor-gemedieerde mitofagie werd waargenomen in de verschillende *in vitro* primaire bronchiale epitheelcel modellen, zowel na acute als ook na chronische blootstelling (hoewel minder uitgesproken). Deze resultaten suggereren een impact van sigarettenrook op de regulatie van processen betrokken bij afbraak van mitochondria in zowel een intact, beschadigd als tijdens herstel van het bronchiaal epithelium. Echter, het aantal kopieën mitochondriël DNA (i.e. maat voor mitochondriële content) en de gen- en eiwitexpressie van onderdelen van de elektronen transport keten evenals expressie van moleculen betrokken bij fusie/splijting van mitochondria leken grotendeels onveranderd na blootstelling aan sigarettenrook in de modellen. Ten slotte, in de gedifferentieerde primaire bronchiale epitheelcel culturen werden veranderingen in de moleculaire controle van mitochondriële biogenese waargenomen en ook detecteerden wij een verhoogd glycolyse metabolisme in reactie op blootstelling aan sigarettenrook. De beschreven veranderingen bleven gedeeltelijk in stand in het model van chronische blootstelling tijdens differentiatie, en de daaropvolgende stopzetting van blootstelling. De overeenkomsten laten zien dat rook blootstelling een verandering in de regulatie van mitofagie en mitochondriële biogenese induceert in de verschillende modellen, terwijl

de waargenomen verschillen in de regulatie van mitochondriële (metabole) processen in de verschillende modellen het belang benadrukken van het afstemmen van het *in vitro* model op de onderzoeksvraag.

Inhalatie van acroleïne heeft effect op de moleculaire regulatie van mitochondrieel metabolisme en functie in longweefsel van ratten

In welke mate inhalatie van acroleïne (als component van sigarettenrook) invloed heeft op processen die mitochondrieel metabolisme en mitochondriële content/functie reguleren *in vivo* is nauwelijks beschreven in de literatuur.

Daarom hebben wij, in **hoofdstuk 4**, het effect van inhalatie van acroleïne via de neus (0-2-4 ppm; 4 uur/dag voor 1 of 2 dagen) onderzocht op de enzymactiviteit, eiwit- en genexpressie van regulatoren van mitochondrieel metabolisme in de longen van ratten. De impact van acute acroleïne blootstelling op de enzymactiviteit, eiwit- en genexpressie van regulatoren van mitochondriële functie was dosis- en tijdsafhankelijk. Er werd voornamelijk een verlaagde mRNA- en eiwit expressie van regulatoren betrokken bij mitochondriële biogenese en expressie van onderdelen van de elektronentransportketen waargenomen. Moleculen betrokken bij mitofagie bleken onveranderd.

Vervolgens, hebben wij dit, in **hoofdstuk 5**, verder onderzocht door te kijken naar het effect van acroleïne na langdurige blootstelling. Deze langdurige blootstelling is potentieel een meer representatief blootstellingsregime voor de chronische blootstelling van rokers. In deze studie werden ratten blootgesteld aan acroleïne gedurende 4 weken ('whole body'; 0-3 ppm; 5 uur per dag/5 dagen/week). Genexpressie van inflammatoire genen was verhoogd na acroleïne blootstelling. Daarnaast resulteerde acroleïne blootstelling in een verlaagde enzymactiviteit en/of transcriptie niveaus van regulatoren betrokken bij de verbranding van vetzuren en glucose metabolisme, wat mogelijk duidt op veranderingen in metabole processen (substraat gebruik). Expressie van regulatoren betrokken bij biogenese en afbraak van mitochondriën bleken onveranderd.

Het in meer detail begrijpen van het effect van acroleïne (alook andere aldehyden) op de functie van mitochondriën zal moeten uitwijzen of aldehyden in sigarettenrook bijdragen aan mitochondriële disfunctie en of dit daarom ook een argument zal zijn voor de regulering van aldehyden in sigarettenrook.

Impact van aldehyden op de moleculaire mechanismen die mitochondriële content en functie reguleren in humane primaire bronchiale epitheelcellen

Zoals eerder aangegeven focust de huidige maar schaarse literatuur in dit veld zich voornamelijk op onderzoek naar blootstelling van longcellijnen aan individuele aldehyden (met name acroleïne). Relevanter echter zijn studies naar de impact van een mengsel van aldehyden in meer geavanceerde *in vitro* modellen van primaire cel culturen waarbij een fysiologisch relevant blootstelling regime (puf-regime) wordt gebruikt. Dit ontbreekt momenteel in de literatuur. Daarom hebben wij in **hoofdstuk 6** een *in vitro* model ontwikkeld om te onderzoeken wat de invloed is van een mengsel van acetaldehyde, acroleïne en formaldehyde op de moleculaire regulatie van mitochondriële content en functie in gedifferentieerde humane primaire bronchiale epitheelcellen. Hiertoe hebben wij primaire bronchiale epitheelcel culturen van 4 non-COPD donoren blootgesteld aan de rook van één sigaret (Marlboro Red) of een vergelijkbaar mengsel van acetaldehyde, acroleïne en formaldehyde of lucht (controle) in een systeem met een continue luchtflow waarbij een puf-regime werd aangehouden (Health Canadian Intense regime, 8 puffen). Blootstelling aan sigarettenrook of een mengsel van aldehyden resulteerde niet in een verhoogde celdood. Na blootstelling aan sigarettenrook werden verhoogde eiwit en mRNA levels van Interleukine-8 waargenomen. Bovendien toonde eiwit- en genexpressie data van de aan sigarettenrook blootgestelde gedifferentieerde primaire bronchiale epitheelcellen een verhoogde expressie van autofagie regulatoren aan, terwijl de eiwitexpressie van regulatoren betrokken in receptor-gemedieerde mitofagie verlaagd was. Veranderingen in de regulatie van mitochondriële biogenese werden ook waargenomen in respons op sigarettenrook. Deze veranderingen in de expressie van regulatoren betrokken bij de regulatie van mitochondriële content/functie (mitofagie/biogenese) werden slechts gedeeltelijk ook waargenomen na blootstelling aan het mengsel van aldehyden. Bovendien had sigarettenrook blootstelling een effect op de genexpressie van marker *KRT5* (basaal celtype) (verlaging), terwijl andere basale en lumbale celtypen aanwezig in het bronchiale epitheel en de trilhaar bewegingen niet beïnvloed leken te worden door blootstelling aan sigarettenrook of een mengsel van aldehyden. Samenvattend suggereren deze bevindingen dat andere componenten dan aldehyden aanwezig in sigarettenrook bijdragen aan de rook-geïnduceerde veranderingen in (de regulatie van) mitochondriële functie in epitheelcellen van de luchtwegen.

Samenvatting, discussie en conclusie

Dit proefschrift had als doel om te onderzoeken wat de impact is van aldehyden (als componenten van sigarettenrook) op de moleculaire regulatie van mitochondriële functie in epitheelcellen van de longen en luchtwegen in de context van COPD.

In aanvulling op de huidige literatuur waarin een (causale) relatie tussen sigarettenrook, mitochondriële dysfunctie en COPD wordt gesuggereerd, hebben wij aangetoond dat de transcriptionele regulatie van mitochondriële biogenese en mitofagie verstoord is in het perifere longweefsel van zeer ernstig zieke COPD patiënten. Dit werd echter niet in dezelfde mate waargenomen in primaire bronchiale epitheelcellen van COPD patiënten (**hoofdstuk 2**). De waargenomen verschillen tussen de verschillende compartimenten van de luchtwegen/longen suggereren een rol voor (interacties tussen) verschillende celtypen die aanwezig zijn in de heterogene micro-omgeving in de long waarvoor het perifere longweefsel representatief is, terwijl primaire bronchiale epitheelcellen slechts een basaal cel type of een intact pseudo-gestratificeerd epithelium reflecteren.

Vervolgens heeft **hoofdstuk 3** meer inzicht gegeven in het effect van verschillende type sigarettenrook blootstelling op de moleculaire regulatie van mitochondrieel metabolisme en processen die daarbij betrokken zijn in verschillende cel modellen welke representatief zijn voor diverse soorten bronchiaal epitheel (schade). De waargenomen overeenkomsten en verschillen in de expressie en enzymactiviteit van componenten betrokken bij mitochondriële metabole processen en aanmaak/afbraak van mitochondria in de verschillende experimentele modellen benadrukken het belang van het afstemmen van het *in vitro* model op de onderzoeksvraag.

Aangezien het onbekend is welke van de duizenden stoffen in sigarettenrook verantwoordelijk zijn voor deze rook-geïnduceerde verstoring van de regulatie van mitochondriële functie en aldehyden worden erkend als één van de schadelijkste componenten, hebben wij de rol van acroleïne hierin onderzocht. Afwijkingen in de moleculaire regulatie van mitochondrieel metabolisme werden waargenomen na acute (1-2 dagen) acroleïne blootstelling van ratten (**hoofdstuk 4**). Dit effect werd echter niet (of in mindere mate) waargenomen na een langere *in vivo* acroleïne blootstelling (4 weken) (**hoofdstuk 5**).

Adaptatie na langdurige blootstelling kan een mogelijke verklaring zijn voor deze verschillende resultaten. Hoewel de gebruikte doseringen en het continue blootstellingsregime in deze studies overeenkwamen, lijken duur van blootstelling (dagen *versus* weken) en blootstellingsroute (neus *versus* whole-body) cruciaal te zijn bij het bepalen van de impact van acroleïne op mito-toxiciteit. Bovendien, zijn mitochondriële functie *per se* of kenmerken van COPD (emfyseem/bronchitis) niet geanalyseerd in deze studies, waardoor er geen conclusies kunnen worden

getrokken over de relatie tussen acroleïne inhalatie en mitochondriële functie en/of de ontwikkeling van COPD. Ten slotte, is alleen acroleïne blootstelling onderzocht waardoor we niets kunnen concluderen over andere aldehyden en/of de mogelijke invloed van andere chemische componenten aanwezig in sigarettenrook (in combinatie met aldehyden) op mito-toxiciteit in cellen van de longen.

Aangezien het relevanter is om, in de context van sigarettenrook, studies uit te voeren waarin geavanceerde *in vitro* modellen van humane primaire cel culturen worden blootgesteld aan een mengsel van aldehyden via een fysiologisch blootstelling regime (puf-regime), hebben wij dit gebruikt voor het onderzoeken van onze hypothese in **hoofdstuk 6**. Hoewel een verstoring in de inflammatoire respons alsook in de regulatie van mitochondriële content/functie (mitofagie/biogenese) werd waargenomen in respons op sigarettenrook, werden deze bevindingen slechts gedeeltelijk bevestigd na blootstelling aan het mengsel van aldehyden. Er zijn verschillende verklaringen voor deze discrepanties. Ten eerste, het mengsel van aldehyden gedraagt zich mogelijk anders dan de aldehyden zoals aanwezig in het complexe mengsel van sigarettenrook. Ten tweede, het kan niet worden uitgesloten dat andere chemische componenten aanwezig in sigarettenrook verantwoordelijk zijn voor de rook-geïnduceerde mitotoxiciteit in cellen van de longen. Ten derde dienen de uitdagingen met betrekking tot de dosimetrie te worden opgelost om direct terug te kunnen meten welke hoeveelheid aldehyden de cellen hebben bereikt om vervolgens meer inzicht te krijgen in effecten van dosimetrie. Ten vierde zou het mogelijk kunnen zijn, zoals eerder gesuggereerd, dat de heterogene micro-omgeving in de long en respectievelijk interactie tussen verschillende cel populaties een rol speelt bij de relatie tussen aldehyden blootstelling, mitochondriële dysfunctie, en COPD ontwikkeling. Vervolgonderzoek met bijvoorbeeld co-culturen kunnen bijdragen om dit effect onderzoeken.

Concluderend vormen de bovenstaande resultaten van de onderzoeken omtrent blootstelling aan aldehyden geen overtuigend bewijs om de regulering (verlaging) van aldehyden in sigarettenrook te ondersteunen. Desalniettemin, draagt ons onderzoek bij aan het beschikbare wetenschappelijke bewijs met betrekking tot de impact van de blootstelling aan aldehyden via sigarettenrook op de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan mitochondriële dysfunctie in de (epitheel) cellen van de longen en luchtwegen van rokers. Deze aanvullende wetenschappelijk kennis creëert meer bewustzijn van de potentie en noodzaak van het reguleren van de inhoud en samenstelling van emissies van tabak producten, in het bijzonder suikers en additieven, en dient in overweging te worden genomen door beleidsmakers.

Ten slotte hebben wij op basis van onze bevindingen en de huidige literatuur verschillende 'knowledge gaps' geïdentificeerd. Toekomstig onderzoek zal zich kunnen focussen op:

1. De rol van aldehyden in de ontwikkeling van COPD

Suggesties voor onderzoek: langdurige blootstellingen aan individuele aldehyden, mengsels van aldehyden en/of in combinatie met andere chemische stoffen aanwezig in sigarettenrook in in vivo of geavanceerde in vitro modellen (e.g., co-culturen) dienen te worden gecombineerd met eindpunten gerelateerd aan COPD ontwikkeling zoals slijm hypersecretie of beschadigingen aan het epitheel.

2. De relatie tussen blootstelling aan aldehyden en mitochondriële dysfunctie in cellen van de longen en luchtwegen.

Suggesties voor onderzoek: het effect van individuele aldehyden, mengsels van aldehyden en/of in combinatie met andere chemische stoffen aanwezig in sigarettenrook op de mitochondriële functie per se in cellen van de luchtwegen en longen kan worden geanalyseerd door middel van geavanceerde respiratie metingen, microscopie, activiteit van enzymen betrokken bij mitochondriële energie metabolisme of analyse van fysiologische processen waarin mitochondria een grote rol spelen zoals slijm secretie en trilhaar bewegingen.

3. De causale rol van aldehyde-geïnduceerde mitochondriële dysfunctie in de ontwikkeling van COPD.

Suggesties voor onderzoek: genetische modificaties of farmacologische interventies welke zich richten op het voorkomen, opruimen of redden van door aldehyde veroorzaakte schade, mitochondriële (dys)functie of COPD ontwikkeling kunnen bijdrage aan het ontrafelen van de relatie tussen aldehyden, mitochondriële dysfunctie en de ontwikkeling van COPD.

Naast bovenstaande punten, moet worden onderzocht of het verlagen van de aldehyde levels (dosis-respons studies) in sigaretten (rook) kan bijdragen aan gezondheidswinst van rokers, specifiek met betrekking tot een gunstig effect op mitochondriële dysfunctie in de context van COPD ontwikkeling.

Deze toekomstige onderzoeken kunnen bijdragen aan het verkennen van de mogelijkheden om COPD therapieën te ontwikkelen die zich richten op mitochondria en/of aldehyden.

Samenvattend, kunnen we concluderen dat, op basis van ons onderzoek, het op dit moment onduidelijk is of aldehyden bijdragen aan het risico op COPD via het induceren van mitochondriële dysfunctie. Aanvullend wetenschappelijk onderzoek zal nodig zijn om het mechanistische en causale effect van aldehyden op de regulatie van mitochondriële processen/functie in de longen en luchtwegen verder te onderzoeken.