

Gene expression profiling of atherosclerosis

Citation for published version (APA):

Faber, B. C. G. (2003). *Gene expression profiling of atherosclerosis*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20030925bf>

Document status and date:

Published: 01/01/2003

DOI:

[10.26481/dis.20030925bf](https://doi.org/10.26481/dis.20030925bf)

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.

Summary

Atherosclerosis and its related complications, like myocardial infarction and stroke, have become the main cause of death in western society. Atherosclerosis is a slow progressive disease of the arteries that is already initiated early in life. Although advanced but stable lesions can grow sufficiently large to block blood flow, rupture of an atherosclerotic lesion and subsequent thrombus formation predominantly account for most clinical complications. Therefore a better understanding of the pathophysiology of lesion progression and subsequent thrombus formation will result in improved therapy and diagnosis. The different stages of atherosclerosis are morphologically well described. However, the molecular mechanisms involved are still largely unknown. Over the last few years many groups focused on gene expression profiles of several cell lines, like macrophages, smooth muscle cells and endothelial cells, given an atherogenic stimulus. However, *only limited information is available on the in vivo situation*. Few groups studied the differences in gene expression between whole mount normal and atherosclerotic artery and early atherosclerotic lesions and advanced lesions. Until now information regarding the molecular mechanisms that underlie the transition of a stable lesion to a lesion with a thrombus is lacking.

The main hypothesis of this thesis is that each atherosclerotic lesion type is accompanied by a specific gene expression profile. The first part of this thesis focuses on the gene expression profiles that accompany the different stages of atherosclerosis in human and the ApoE deficient mouse. In the second part of this thesis, the function of three of the differentially expressed genes (cathepsin K, perilipin, vasculin) in atherogenesis is further evaluated.

An inventory of the genes that are potentially involved in rupture of an atherosclerotic lesion is described in *chapter 2*. Based on recent literature regarding gene expression profiles on whole mount vascular tissue, we postulate that at least three mechanisms are involved in rupture of an atherosclerotic lesion. These mechanisms are (1) a disturbed balance in extracellular matrix turn-over, (2) a disturbed regulation of cell turn-over and (3) processes involved in lipid metabolism. Animal models exhibiting features of rupture of an atherosclerotic lesion reflect the involvement of these mechanisms. Furthermore, intervention studies in mechanisms involved in extracellular matrix turn-over suggest that the processes of atherosclerosis, aneurysm formation and neointima formation have different underlying molecular mechanisms.

In chapters 3 and 4 we studied the different gene expression profiles between early lesions and stable lesions (chapter 4) and stable lesions and lesions containing a thrombus (chapters 3 and 4) using suppression subtractive hybridisation (SSH) and DNA micro-array analysis. The SSH procedure resulted in two libraries containing 5000 genes that showed either enhanced expression in stable lesions or in lesions containing a thrombus. Subsequent analysis using a second independent method, the macro-array

analysis, revealed that approximately ten percent of these genes were truly differentially expressed during lesion progression. Additional RT-PCR analysis on individual lesions revealed that the gene coding for perilipin was exclusively expressed in lesions containing a thrombus. Furthermore, clone SSH6 (vasculin) was expressed in 80% of the lesions containing a thrombus while only 20% of the stable lesions tested positive. DNA micro-array analysis on early lesions versus stable lesions and stable lesions versus lesions containing a thrombus showed that 329 genes were differentially expressed (at least 1.7 fold difference in expression). Remarkably, comparison of the results obtained by SSH and DNA micro-array analysis revealed that 60% of the SSH derived genes encoded EST fragments or novel sequences while as little as 11% of the DNA micro-array derived genes coded for EST fragments. Furthermore, only fibronectin and TGF β binding protein 1 showed consistent differential expression in both methods. These results indicate that different sets of genes were identified using both methods. Functional clustering of the differentially regulated genes resulted in at least 8 different clusters of which the clusters of genes involved in 1) lipid metabolism 2) matrix turn-over and protein degradation, 3) the immune system and 4) growth factors were the most predominant. In general, three sets of genes can be recognized: known genes that were previously linked to atherosclerosis, known genes previously not linked to atherosclerosis and novel genes involved in atherosclerosis.

Since the ApoE deficient mouse is a commonly used model in atherosclerosis research, large scale gene expression analysis was performed on the aortic arches of ApoE deficient mice and wild type C57Bl6 mice (*chapter 5*). These mice were fed a normal chow diet or a western type diet for 3, 4.5 and 6 months. To identify genes affected by cholesterol withdrawal one ApoE $^{-/-}$ group was fed a western type diet for 4.5 months and this diet was replaced by a normal diet for 1.5 months. In total 498 genes showed differential regulation (> 2 fold) in at least one group. In the normal chow diet group the number of differentially regulated genes correlated with plaque area, number of cells, number of macrophages and number of T-cells. These correlations were not observed in the western type diet group. After cholesterol withdrawal the number of genes that were differentially expressed decreased. Since cholesterol lowering is thought to result in plaque stabilization, these cholesterol withdrawal sensitive genes might be important for therapy. Functional clustering resulted in, among others, groups of genes involved in (1) lipid metabolism (2) matrix turn-over and protein degradation, (3) the immune system and (4) cytokines. In contrast to the identical functional gene clusters, only few genes show identical gene expression profiles during human and murine atherosclerosis.

From *chapters 3, 4 and 5* we can conclude that the different stages of atherosclerosis are accompanied the expression of specific sets of genes. However, the use of different methods may result in the identification of different gene pools.

In the next three chapters we focussed on the role of individual genes that were differentially expressed during human atherogenesis. In *chapter 6* we evaluated the role of the lysosomal cysteine protease cathepsin K in atherosclerosis. Cathepsin K is an example of a gene that was already linked to atherosclerosis. We found enhanced expression of this gene in human stable lesions compared to early lesions and lesions containing a thrombus. The role of cathepsin K in atherosclerosis was assessed in mice that were deficient in both ApoE and cathepsin K. We report that deficiency in cathepsin K results in a 45% reduction in plaque burden. In addition a shift in lesion type was observed. The initial lesion was the predominant lesion type in double knock out animals, whereas the majority of the lesions in ApoE deficient mice represented advanced lesions. Furthermore, lesions of cathepsin K/ApoE deficient mice showed a reduced macrophage content, an increased collagen content and a thicker fibrous cap. In conclusion, cathepsin K plays an important role in lesion progression since deficiency for this gene results in reduced lesion progression. Thus, the present study indicates that cathepsin K might be useful as a therapeutic target to prevent cardiovascular events.

Our finding that perilipin mRNA expression was restricted to atherosclerotic lesions containing a thrombus was the first to link this gene to atherosclerosis. In *chapter 7* we made an inventory of the mRNA and protein expression profiles of perilipin in non diseased artery, early lesions, stable lesions and lesions containing a thrombus. Perilipin is a protein that is involved in neutral lipid metabolism. Therefore we also included two other proteins involved in neutral lipid metabolism, HSL and ADRP, in this study. We observed that (1) perilipin mRNA was predominantly expressed in lesions containing a thrombus, while perilipin protein was expressed in foam cells of early lesions, the shoulder region of stable lesions and near the site of rupture in lesions containing a thrombus. (2) HSL mRNA and protein expression increased during lesion progression and co-localized with perilipin. (3) ADRP mRNA and protein was abundantly present in all lesion types. The spatio-temporal expression of perilipin, HSL and ADRP in the different stages of lesion progression suggests a role for neutral lipid metabolism in human atherogenesis.

The SSH procedure as described in *chapter 3* resulted in the identification of many EST fragments. One of the EST fragments, SSH6, was predominantly expressed in lesions containing a thrombus. In *chapter 8* we expand our analysis on this gene. We showed that SSH6 contains an insertion of 120 nucleotides, including a start codon, in exon 3. This insertion is not present in the majority of the homologous sequences. The mRNA of the alternative splice variant, including exon 3, was exclusively expressed in the vascular wall. This splice variant was called vasculin an acronym for vascular wall linked protein. Vasculin protein was primarily expressed in vascular tissue and in plasma,

whereas the variant that lacked exon 3 (SSH6- β) was ubiquitously expressed. During the progression of atherosclerosis SSH6- β expression diminished, while vasculin expression increased. In conclusion, the regulated expression of vasculin during atherosclerogenesis suggests a role for this protein in atherosclerosis. Furthermore, its presence in the plasma might be useful as a marker for atherosclerosis.

In *chapter 9* the experimental chapters are discussed and put into a broader context. Comparison of our gene expression studies and the gene expression studies described in literature, both performed on whole mount human atherosclerotic tissue, show that 9% of the genes show consistent regulation. Furthermore, we observed only a minute overlap of genes that show identical regulation between atherosclerosis and aneurysm formation or between atherosclerosis and neointima formation. This supports the hypothesis posted in *chapter 2* that these vascular diseases have different underlying molecular mechanisms. Comparison of our whole mount vascular tissue approach with gene expression profiling studies on cell lines given an atherosclerotic stimulus, show only a minute overlap (3.5%) of the differentially regulated genes. This might indicate that the processes in whole mount vascular tissue and cell lines given an atherosclerotic stimulus are not identical. Finally, we compared the gene expression profiles during human atherosclerosis to that of the ApoE deficient mice. Six percent of the genes were differentially modulated during atherosclerosis in both species. Remarkably, no genes showed identical expression profiles in lesions containing a thrombus and in advanced murine lesions. This might suggest that murine lesions do not rupture because of at least partially different molecular mechanisms that underlie the disease.

The studies described in this thesis show that each stage in atherogenesis is accompanied by specific gene-expression profiles. Functional clustering revealed that genes involved in lipid metabolism, matrix turn-over/ protein degradation and the immune system are important in atherogenesis. In addition, we assessed the importance of cathepsin K, in lesion progression. Therefore, this cysteine protease might be an important therapeutic target to stabilize atherosclerotic lesions. Furthermore, the gene expression profiling studies resulted in the identification of a gene previously not linked to atherosclerosis, perilipin, and the EST fragment vasculin. Both genes are potentially important in atherosclerosis. Therefore, we conclude that the gene expression profiling studies as described in this thesis are very important to unravel the molecular mechanisms involved in atherosclerosis.

De complicaties van atherosclerose (aderverkalking) zoals het hartinfarct en het herseninfarct zijn de belangrijkste doodsoorzaak in de Westerse wereld. Atherosclerose is een langzaam progressieve aandoening die al in de eerste decennia van het leven geïnitieerd wordt. In het proces van atherosclerose kunnen verschillende stadia onderscheiden worden. Vroege atherosclerotische lesies worden gekarakteriseerd door kleine vetophopingen en de infiltratie van ontstekingscellen in de vaatwand. Deze vroege lesies veroorzaken geen klinische complicaties. Stabiele lesies bevatten een kern van vet, cholesterol en dode cellen (ook wel necrotische kern genoemd), die bedekt wordt met een laagje fibreus bindweefsel (de fibreuze kap). Tevens kunnen de stabiele lesies kalk en fibreus bindweefsel bevatten. Wanneer de stabiele lesie te groot wordt, kan deze de bloedstroom belemmeren en daardoor bijvoorbeeld pijn op de borst of etalagebenen veroorzaken. De belangrijkste oorzaak van klinische complicaties is het ruptureren van een lesie. Hierdoor wordt een bloedprop (trombus) gevormd, wat tot totale afsluiting van het bloedvat kan leiden. Deze lesies worden de lesies met een trombus genoemd. Hoewel de morfologische karakteristieken van de diverse lesiestadia goed beschreven zijn, is er weinig bekend over de onderliggende moleculaire mechanismen. Wanneer we zouden kunnen achterhalen welke mechanismen van belang zijn bij de vorming van een lesie met een trombus kan dat mogelijk resulteren in een verbeterde therapie en diagnose. Door de ontwikkeling van nieuwe technieken, zoals bijvoorbeeld de DNA-chip, kunnen de moleculaire mechanismen op grote schaal bestudeerd worden. Veel onderzoeksgroepen hebben de genexpressieprofielen bestudeerd van cellen zoals, macrofagen, gladde spiercellen en endotheelcellen die een atherogene stimulus kregen. Hoewel deze cellen deel uit maken van de lesie geeft dit niet het gehele beeld van de in vivo situatie weer. Een klein aantal onderzoeksgroepen heeft daarom gekeken naar de verschillen in het genexpressieprofiel tussen een normale vaatwand en een atherosclerotische vaatwand, en vroege lesies en stabiele lesies. Hierbij werd gebruik gemaakt van stukjes vaatwand. Het verschil in genexpressieprofiel tussen de stabiele lesies en de lesies met een trombus is tot nu toe niet bestudeerd.

De belangrijkste hypothese van dit proefschrift is dat de verschillende types atherosclerotische lesies een specifiek genexpressiepatroon bezitten. In het eerste gedeelte van dit proefschrift worden de genexpressiepatronen van de verschillende stadia in humane atherosclerose bestudeerd. Tevens is het genexpressieprofiel tijdens de progressie van atherosclerose bestudeerd in een muismodel van atherosclerose, te weten de ApoE deficiënte muis, bestudeerd. In het tweede gedeelte van dit proefschrift wordt de functie van drie differentieel tot expressie komende genen (cathepsine K, perilipine en vasculine) in atherosclerose verder bestudeerd.

In *hoofdstuk 2* hebben we een inventarisatie gemaakt van de genen die mogelijk betrokken zijn bij het ontstaan van een atherosclerotische lesie met een trombus. Op basis van recente literatuur over genexpressiestudies in vaatweefsel, veronderstellen we dat er ten minste drie mechanismen betrokken zijn bij het ruptureren van een atherosclerotische lesie. Deze mechanismen zijn (1) een verstoorde balans in de turnover van extracellulaire matrix, (2) een verstoorde balans in de turnover van cellen en (3) processen betrokken bij vetmetabolisme. Diermodellen die kenmerken vertonen van de vorming van een trombus in een vat, bevestigen de betrokkenheid van deze mechanismen. Tevens doen studies die ingrijpen in het mechanisme van extracellulaire matrix turnover vermoeden dat er verschillen zijn in de onderliggende moleculaire mechanismen van de verschillende vaataandoeningen zoals atherosclerose, vorming van aneurysma's en vorming van een neointima.

De verschillen in genexpressiepatronen tussen vroege lesies en stabiele lesies en stabiele lesies en lesies met een trombus worden bestudeerd in *hoofdstuk 3 en 4*. Daarbij werd gebruik gemaakt van twee verschillende technieken, de suppressieve subtractie hybridisatie (SSH) en de DNA-chip. Door middel van de SSH techniek werden twee bibliotheken geconstrueerd die 5000 genen bevatten die mogelijk verschillend tot expressie komen tussen stabiele lesies en lesies met een trombus. Met een tweede onafhankelijke techniek, de macro-array, toonden we aan dat ongeveer tien procent van deze genen reproduceerbaar verschillend tot expressie komen tussen de verschillende lesie types. RT-PCR analyse van individuele lesies toonde vervolgens aan dat het gen dat codeert voor perilipine alleen tot expressie komt in lesies met een trombus. Het gen SSH6 (vasculine) komt tot expressie in 80% van de lesies met een trombus, terwijl in maar 20% van de stabiele lesies SSH6 tot expressie komt. De DNA-chip techniek, waarin vroege lesies vergeleken werden met stabiele lesies en stabiele lesies met lesies met een trombus, toonde aan dat 329 genen verschillend tot expressie komen. Vergelijking van de resultaten van de SSH en de DNA-chip toonde aan dat 60% van de SSH genen codeert voor EST fragmenten (onbekende genen) of nieuwe sequenties, terwijl maar 11% van de DNA-chip genen codeerden voor deze EST fragmenten. Alleen de genen die coderen voor fibronectine en het TGF β bindend eiwit 1 vertoonden vergelijkbare expressiepatronen in beide methoden. Functionele clustering van de genen die verschillend tot expressie komen resulteerde in tenminste 8 verschillende clusters waarvan de clusters van genen betrokken bij (1) vetmetabolisme, (2) extracellulaire matrix turnover en eiwit degradatie, (3) het immuunsysteem en (4) celgroei, het belangrijkste lijken. Over het algemeen kunnen drie groepen genen onderscheiden worden: de bekende genen die al beschreven zijn in atherosclerose, de bekende genen die nog niet beschreven zijn in atherosclerose, en nieuwe genen die mogelijk betrokken zijn bij atherosclerose.

Omdat de ApoE deficiënte muis een veel gebruikt model is in het onderzoek naar atherosclerose, hebben we ook de genexpressieprofielen bepaald in de aortabogen van de ApoE deficiënte muis en de wildtype muis, de C57Bl6 muis (*hoofdstuk 5*). De muizen kregen gedurende 3, 4.5 en 6 maanden een normaal dieet of een hoog vet dieet. Om genen te kunnen identificeren die beïnvloed worden door verlaagde cholesterol concentraties, kreeg een groep gedurende 4.5 maanden een hoogvet dieet waarna dit dieet vervangen werd door een normaal dieet gedurende 1.5 maand. Wij vonden dat 498 genen verschillend tot expressie kwamen in tenminste een van deze groepen. In de groep muizen die een normaal dieet hadden gekregen, werd een correlatie gevonden tussen het aantal genen dat verschillend tot expressie kwam en het lesieoppervlakte, het aantal cellen, het aantal macrofagen en het aantal T-cellen. Deze correlaties werden niet gevonden in de hoog vet dieet groep. In de groep waarbij het cholesterol uit het dieet verwijderd was, nam het aantal genen dat verschillend tot expressie kwam af. Omdat gedacht wordt dat verlaging van de hoeveelheid cholesterol leidt tot stabilisatie van een atherosclerotische lesie, kunnen deze genen van belang zijn voor therapeutische doeleinden. Functionele clustering van de genen die een verschillend genexpressiepatroon vertoonden, resulteerde onder andere in de volgende clusters van genen betrokken bij: (1) vetmetabolisme, (2) extracellulaire matrix turnover en eiwit degradatie, (3) het immuunsysteem en (4) cytokines. In tegenstelling tot de identieke functionele clusters in mens en muis, waren er maar weinig genen die zowel in de mens als de muis vergelijkbare expressiepatronen vertoonden. Uit *hoofdstuk 3, 4 en 5* kunnen we concluderen dat de verschillende stadia in atherosclerose worden vergezeld door expressie van specifieke sets van genen. Echter, het gebruik van verschillende methoden kan leiden tot de identificatie van verschillende genen.

In de volgende drie hoofdstukken wordt de rol van drie individuele genen die verschillend tot expressie komen bij humane atherosclerose besproken. In *hoofdstuk 6* bestuderen we de rol van cathepsine K, een lysosomaal cysteine protease dat in staat is collageen 1 af te breken, in atherosclerose. Cathepsine K is een voorbeeld van een gen dat al beschreven was in atherosclerose. Wij vonden een verhoogde cathepsine K expressie in stabiele lesies wanneer deze vergeleken werden met vroege lesies en lesies met een trombus. De rol van cathepsine K in atherosclerose werd bestudeerd in een muis die deficiënt is voor zowel ApoE en cathepsine K. Aangevoerd werd dat muizen zonder cathepsine K 45% minder lesies hadden. Tevens werd een verschuiving in het type lesie gevonden. Terwijl de vroege lesie het meest voorkomende lesie type in cathepsine K/ApoE deficiënte muizen was, was het merendeel van de lesies in de ApoE deficiënte muis vergeworperd. Ook bevatten de lesies van de cathepsine K/ApoE deficiënte muizen minder macrofagen, meer collageen en een dikkere fibreuze kap. Omdat afwezigheid van cathepsine K resulteert in een verminderde lesie progressie,

kunnen we stellen dat cathepsine K een belangrijke rol speelt in de progressie van atherosclerose. Daarom zou cathepsine K gezien kunnen worden als een therapeutisch doel in de preventie van cardiovasculaire aandoeningen.

De studie zoals beschreven in *hoofdstuk 3* toonde als eerste aan dat perilipine tot expressie komt in humane atherosclerose. Wij vonden dat dit gen voornamelijk tot expressie komt in atherosclerotische lesies met een trombus. In *hoofdstuk 7* wordt een inventarisatie gemaakt van het genexpressie en eiwitexpressiepatroon van onder andere perilipine in normale arteriën, vroege lesies, stabiele lesies en lesies met een trombus. Perilipine is een eiwit dat betrokken is bij het neutrale vetmetabolisme in de cel. Omdat er meer eiwitten betrokken zijn bij het neutrale vetmetabolisme hebben wij ook het expressiepatroon van twee andere eiwitten bepaald. Deze eiwitten zijn hormoon sensitief lipase (HSL) en adipocyt differentiatie gerelateerd eiwit (ADRP). Wij hebben gevonden dat (1) het perilipine-gen voornamelijk tot expressie komt in lesies met een trombus. Het eiwit daarentegen, komt tot expressie in schuimcellen (cellen die vet hebben opgenomen) van vroege lesies, in de schouderregio van stabiele lesies en in de buurt van de ruptuur in lesies met een trombus. (2) De expressie van zowel het HSL-gen als het HSL-eiwit neemt toe tijdens de lesie progressie. Tevens werd een co-lokalisatie van perilipine en HSL vastgesteld. (3) Zowel het ADRP-gen als het ADRP-eiwit komen hoog tot expressie in alle lesie types. De expressie van perilipine, HSL en ADRP op specifieke locaties en tijd in lesie progressie suggereert dat het neutrale vetmetabolisme een rol speelt bij atherosclerose.

Zoals beschreven in *hoofdstuk 3* resulteerde SSH methode in de identificatie van veel EST-fragmenten. Een van deze EST-fragmenten, te weten SSH6, kwam vaker tot expressie in lesies met een trombus dan in stabiele lesies. De analyse van dit gen wordt uitgebreid beschreven in *hoofdstuk 8*. Wij toonden aan dat SSH6 een insertie bevat in exon 3 van 120 nucleotiden, inclusief een startcodon. Deze insertie is niet aanwezig in het merendeel van de bekende homologe sequenties. De insertievariant van het SSH6-gen wordt exclusief tot expressie gebracht in de vaatwand. Daarom hebben we deze variant vasculine genoemd, als een acroniem voor vascular wall linked protein. Het vasculine eiwit komt voornamelijk tot expressie in de vaatwand en in bloedplasma. Dit in tegenstelling tot de variant zonder de insertie (SSH6- β), welke in alle geteste weefsels voorkomt. Gedurende de progressie van atherosclerose neemt de expressie van SSH6- β af, terwijl de expressie van vasculine toeneemt. Op basis van de gereguleerde expressie van vasculine tijdens atherosclerose suggereren we dat dit eiwit een rol speelt in het proces van atherosclerose. Bovendien zou de aanwezigheid van vasculine in bloedplasma gebruikt kunnen worden als een marker voor atherosclerose.

In *hoofdstuk 9* worden de experimentele hoofdstukken van dit proefschrift bediscussieerd. Vergelijking van onze genexpressiestudies en de genexpressiestudies uit de literatuur, waarbij beide gebruik wordt gemaakt van humaan vaatweefsel, lieten zien dat 9% van de genen consistent verschillend tot expressie komt. Een zeer kleine overlap in de genen die verschillend tot expressie komen, werd aangetoond tussen atherosclerose en andere vasculaire aandoeningen zoals aneurysma en neointima vorming. Deze observatie ondersteunt de hypothese dat deze vasculaire aandoeningen verschillende moleculaire mechanismen bezitten. Wanneer onze genexpressiestudies op humaan vaatweefsel vergeleken worden met genexpressiestudies uitgevoerd op cellijnen, vinden wij maar een hele kleine overlap (3,5%) in de genen die verschillend tot expressie komen. Dit is een indicatie de processen in de vaatwand en in cellen die een atherogene stimulus hebben gekregen niet identiek zijn. Tenslotte hebben we onze humane studies vergeleken met de genexpressiestudie in de ApoE deficiënte muis. Zes procent van de genen vertoonde differentiële expressie in zowel de mens als de muis. Opmerkelijk was dat geen enkel gen differentieel tot expressie kwam in zowel humane lesies met een trombus als in vergevorderde muizenlesies. Dit kan mogelijk betekenen dat de muizenlesies niet ruptureren omdat er verschillende moleculaire mechanismen betrokken zijn bij atherosclerose in de muis en de mens.

De studies beschreven in dit proefschrift tonen aan dat de verschillende stadia van atherosclerose vergezeld worden van specifieke genexpressiepatronen. Clustering, gebaseerd op de functie van de genen toonde aan dat genen betrokken bij vetmetabolisme, matrix/eiwit turnover en het immuunsysteem belangrijk zijn in atherosclerose. Ook toonden we aan dat cathepsine K belangrijk is in lesie progressie. Hierdoor is dit enzym potentieel aantrekkelijk voor therapeutische doeleinden. De genexpressiestudies resulteerden ook in de identificatie van een gen dat niet eerder beschreven was in atherosclerose, te weten perilipine, en het EST fragment vasculine. Beide genen zijn mogelijk belangrijk in atherosclerose. Hierdoor kunnen we concluderen dat genexpressie studies kunnen bijdragen aan het ontrafelen van de moleculaire mechanismen die betrokken zijn bij atherosclerose.