

University of Groningen

Liver X receptor in the cardiovascular system

Kuipers, Irma

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:

2010

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

Citation for published version (APA):

Kuipers, I. (2010). *Liver X receptor in the cardiovascular system*. s.n.

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).

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.

Nederlandse Samenvatting

SAMENVATTING

Liver X receptoren (LXR) zijn nucleaire hormoonreceptoren die de transcriptie van verschillende genen induceren. LXRs spelen een belangrijke rol in cholesterolmetabolisme en worden geactiveerd door oxysterolen; geoxideerde cholesterol partikels. Er zijn twee isoformen van LXRs bekend: LXR- α (voornamelijk tot expressie gebracht in de lever, de milt, de darmen, de macrofagen, het hart en de nieren) en LXR- β (wordt in het gehele lichaam tot expressie gebracht). In de afgelopen 10 tot 15 jaar heeft het onderzoek naar LXRs zich voornamelijk gericht op de rol van LXRs in cholesterolmetabolisme. Daaruit is duidelijk geworden dat LXRs een belangrijke rol spelen in het zogenaamde *reversed cholesterol transport*, oftewel het transport van cholesterol vanuit weefsels richting de lever. Recente studies hebben aangetoond dat LXRs ook een rol spelen in andere fysiologische processen, zoals het remmen van ontstekingsreacties en cel proliferatie. Daarnaast is gebleken dat LXRs een remmende invloed kunnen uitoefenen op het renine-angiotensine-aldosteron systeem (RAAS), het systeem dat de bloeddruk reguleert.

Cholesterolmetabolisme en ontstekingsreacties zijn van grote invloed op de ontwikkeling en het verloop van cardiovasculaire aandoeningen. Beide processen worden gereguleerd door complexe systemen, waarin LXRs een belangrijke rol spelen. Het achterliggende mechanisme waarmee LXRs invloed uitoefenen op het cardiovasculaire systeem is grotendeels onbekend. In dit proefschrift maken we gebruik van verschillende modellen voor cardiovasculaire aandoeningen om de rol van LXRs in de pathofysiologie van deze aandoeningen te onderzoeken. **Hoofdstuk 1** is een literatuuroverzicht van de studies die het functioneren van LXRs in het cardiovasculaire systeem onderzocht hebben, aangevuld met onze eigen bevindingen.

Het RAAS

Het RAAS systeem is essentieel in de regulatie van bloeddruk, hemodynamiek van de nieren en homeostase van het extracellulaire volume. Tevens beïnvloedt het RAAS vasculaire en cardiale herstructurering (remodeling) door invloed uit te oefenen op cel proliferatie en ontstekingsreacties. Om deze redenen is farmacologisch ingrijpen op het RAAS een effectieve en veelgebruikte methode in de behandeling van verscheidene cardiovasculaire aandoeningen. Recent onderzoek biedt nieuwe inzichten in de biologie van nucleaire receptoren in relatie tot cardiovasculaire (patho)fysiologie. Deze nieuwe inzichten en recente studies worden samengevat in **hoofdstuk 6** en laten zien dat er een nauwe samenwerking is tussen nucleaire hormoon receptoren (NHRs) en het RAAS.

Hoofdstuk 2 beschrijft in meer detail de samenwerking tussen LXRs en het RAAS. Hierin beschrijven we hoe het activeren van LXRs met de specifieke agonist T09 leidt tot een afname van (door isoproterenol (ISO) geïnduceerde) RAAS activering in het hart en de nieren. Deze effecten zijn niet aanwezig in muizen die het LXR- α gen niet tot expressie brengen (LXR- $\alpha^{-/-}$ muizen), wat suggereert dat dit effect van de agonist LXR- α afhankelijk is. Hoofdstuk 2 is tevens de eerste beschrijving van een langdurige *in vivo* studie naar het activeren van LXRs in het RAAS. Eerdere (*in vitro*) studies hebben aangetoond dat LXR- α in staat is renine transcriptie *in vitro* te reguleren via een cAMP afhankelijk mechanisme. Tevens hebben *in vivo* studies laten zien dat binnen enkele uren na de toediening van een synthetische LXR agonist, LXR- α reninetranscriptie in muizen reguleert. De transcriptionele regulatie van *angiotensin*

converting enzyme (ACE) is grotendeels onbekend, maar de (complexe) transcriptionele regulatie van de angiotensine receptor type 1 (AT₁R) is al grotendeels opgehelderd. In onze studie zien we een afname van AT₁R mRNA expressie in de nieren, wat overeenkomt met eerder gepubliceerde studies. Zo is al eerder aangetoond dat het activeren van LXRs leidt tot een afname van AT₁R expressie in vasculaire gladde spiercellen *in vitro*. Een andere studie heeft aangetoond dat het activeren van LXRs leidt tot een verlaagde bloeddruk in ratten behandeld met angiotensine II. Aan de hand van de data beschreven in hoofdstuk 2 concluderen we dat het activeren van LXRs RAAS activiteit verlaagt, wat zou kunnen leiden tot bloeddruk verlaging. Dit leidt tot onze volgende hypothese: het activeren van LXRs beschermt het hart tegen de nadelige effecten van hypertensie.

Remodellering van het hart

Hypertrofie van het hart

De hypothese dat het activeren van LXRs het hart beschermt tegen de nadelige effecten van hypertensie hebben we getest in **hoofdstuk 3**. Deze studie laat zien dat het activeren van LXRs de ontwikkeling van cardiale hypertrofie tegengaat. Met behulp van een *in vitro* studie laten we zien dat het activeren van LXRs de hypertrofie van cardiomyocyten tegen gaat. Vervolgens laten we in een muismodel voor cardiale hypertrofie zien dat activering van LXRs zowel de ontwikkeling van hypertensie als remodellering van het hart tegengaat. Omdat deze effecten niet zichtbaar waren in LXR- $\alpha^{-/-}$ muizen, lijkt dit een LXR- α afhankelijk effecten te zijn.

Onlangs hebben Wu *et al.* een studie gepubliceerd waarin omschreven wordt dat het activeren van LXRs *in vitro* in ratcardiomyocyten de hypertrofische respons tegengaat na angiotensine II behandeling. In hoofdstuk 3 bevestigen we deze resultaten en breiden ze verder uit door te bewijzen dat dit een LXR-afhankelijk effect is. Door gebruik te maken van siRNA, wat een complete blokkade vormt voor LXR-expressie, laten we zien dat het remmende effect van T09 zonder LXR-expressie niet aanwezig is.

Vervolgens hebben we onze *in vitro* bevindingen *in vivo* getest door gebruik te maken van een muizenmodel om de effecten van het activeren van LXRs op hypertrofie van het hart te testen. We laten zien dat in dit model T09 antihypertrofische effecten laat zien. Naast de afname de remodellering van het hart, zien we dat de bloeddruk lager is in wildtype muizen die behandeld zijn met T09. Deze bevindingen zijn in overeenstemming met de resultaten omschreven in hoofdstuk 2.

Het mechanisme achter de antihypertrofische effecten van LXR is nog niet volledig opgehelderd. Klinische studies hebben laten zien dat effecten op hypertrofie van het linker ventrikel niet alleen door bloeddruk verlagende effecten van medicatie kunnen worden verklaard. Naast het bloeddruk verlagende effect van het activeren van LXRs kunnen directe effecten van LXR op het myocardium ook van invloed zijn op de ontwikkeling van hypertrofie. Verschillende *in vitro* studies hebben laten zien dat het activeren van LXRs leidt tot verminderde proliferatie van verschillende celtypen. Onze studie laat zien dat activering van LXRs *in vitro* de hypertrofie van cardiomyocyten tegengaat. Recent hebben Wu *et al.* aangetoond dat de antihypertrofische effecten van LXR- α in cardiomyocyten gereguleerd worden door 'nuclear factor (NF)- κ B'. Er worden echter ook andere transcriptiefactoren en kinases in het hart tot expressie gebracht die betrokken zijn bij remodelleringsmechanismen, zoals Sp1 en 'mitogen-activated protein kinase (MAPK)'. Zowel Sp1 als MAPK kunnen beïnvloed worden door het activeren

van LXRs. In onze studie laten we zien dat net als in andere weefsels en celtypen, de transcriptiefactor 'sterol regulatory element binding protein (SREBP)-1c' verhoogd tot expressie wordt gebracht in het hart na behandeling met T09. De rol van SREBP-1c in de remodellering van het hart is nog grotendeels onbekend, maar het is aangetoond dat SREBP-1c betrokken is bij de parasymphatische reacties in muizenharten. Onze studie laat tevens zien dat de expressie van andere specifieke targetgenen van LXR verhoogd is na T09 behandeling, zoals de expressie van ATP-binding cassette transporter (ABC) A1 en ABCG1. Deze verhoogde expressie van specifieke LXR targetgenen laat zien dat LXR actief is als transcriptiefactor in het myocardium.

Myocardinfarct

Een ander model waarmee we de rol van LXRs in remodellering van het hart onderzocht hebben wordt omschreven in **hoofdstuk 5**. Hier laten we zien dat het activeren van LXRs leidt tot verminderde hypertrofie van het hart na een myocardinfarct (MI). Dit uit zich in een vermindering van de verdikking van de hartwanden, evenals verminderde dilatatie van het linker ventrikel in de muizen die met T09 behandeld zijn, vergeleken met de MI muizen zonder T09 behandeling. Tevens is de *fractional shortening* en de *ejectiefractie* hoger in MI+T09 muizen vergeleken met MI muizen. Deze resultaten bevestigen dat het activeren van LXRs gunstige effecten heeft op de preventie van remodellering van het hart.

In deze studie zijn geen weefselanalyses uitgevoerd om het mechanisme achter de beschermende effecten van het activeren van LXRs vast te stellen. Het is aannemelijk dat LXR via verscheidene mechanismen deze effecten op het hart uitoefent, aangezien LXR bij een groot aantal fysiologische processen betrokken is. Door beïnvloeding van cardiomyocyten, macrofagen en het RAAS zijn LXRs in staat om remodellering van het hart, ontstekingsreacties en bloeddruk homeostase te reguleren. Omdat al deze processen een grote rol spelen in het remodelleringsproces van het hart na een MI, is verder onderzoek van belang om de betrokken mechanismen waardoor LXRs hun invloed uitoefenen te ontrafelen.

Statines

In **hoofdstuk 4** bestuderen we de interactie van statines met LXRs. In dit hoofdstuk beschrijven we dat in een model van overdruk op het hart, behandeling met pravastatine hypertrofie vermindert in wildtype muizen, maar niet in LXR- α -/- muizen. Omdat we eerder hebben aangetoond dat het activeren van LXRs de ontwikkeling van hypertrofie van het hart vermindert, suggereert deze data dat LXRs een prominente rol spelen in het mechanisme waarmee statines in staat zijn de ontwikkeling van hypertrofie te verminderen.

Dat statines in staat zijn hypertrofie van het hart te verminderen is reeds bekend, maar het mechanisme waarmee zij dit effect bereiken is tot op heden niet volledig opgehelderd. De data die beschreven worden in hoofdstuk 4 laten (samen met eerdere publicaties) zien dat in wildtype muizen de behandeling met statine een bloeddruk verlagend effect heeft. Dit wekt de suggestie dat de verminderde hypertrofie van de harten van deze muizen veroorzaakt wordt door de bloeddrukverlagende effecten van deze behandeling. In LXR- α -/- muizen had de statine behandeling geen effect op de bloeddruk, wat laat zien dat LXR- α een cruciale rol speelt in dit proces. Deze resultaten bevestigen de eerdere studies die laten zien dat het activeren van LXRs resulteert in verminderde RAAS activiteit en een verlaagde bloeddruk. Echter, klinische studies laten zien dat veranderingen in de ontwikkeling van hypertrofie niet alleen

door de bloeddruk verlagende effecten van medicatie verklaard kunnen worden. Eerder hebben we al laten zien dat *in vitro* het activeren van LXRs leidt tot verminderde hypertrofie van cardiomyocyten. Tevens laten we in hoofdstuk 4 zien dat statine behandeling een direct effect heeft op de transcriptie van specifieke LXR target genen in het hart. Dus naast de bloeddruk verlagende effecten beïnvloedt een statinebehandeling de gentranscriptie van specifieke target genen van LXR in cardiomyocyten. Deze data bevestigen een interactie tussen LXRs en statines en suggereren dat de beschermende effecten van statines tijdens de ontwikkeling van hypertrofie afhankelijk zijn van LXR- α .

TOEKOMSTPERSPECTIEVEN

Het laatste decennium is de kennis over het functioneren van LXRs in (patho)fysiologische systemen enorm toegenomen. Als remmers van ontstekingsreacties, hypertensie en cardiomyocythypertrofie kunnen LXR activerende middelen als adequate remedie dienen in de behandeling van verschillende cardiovasculaire aandoeningen. De grote uitdaging blijft om gebruik te maken van deze positieve eigenschappen van LXRs terwijl nadelige bijwerkingen van het activeren van LXRs, zoals hypertriglyceridemie en steatosis hepatis, gering worden gehouden. Potentiële oplossingen hiervoor zijn de ontwikkeling van een isoform, weefsel en/of gen specifieke LXR agonist.

