



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Studies on the pathophysiological aspects of the metabolic syndrome in transgenic mice

Hu, L.

Citation

Hu, L. (2009, February 25). *Studies on the pathophysiological aspects of the metabolic syndrome in transgenic mice*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/13520>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/13520>

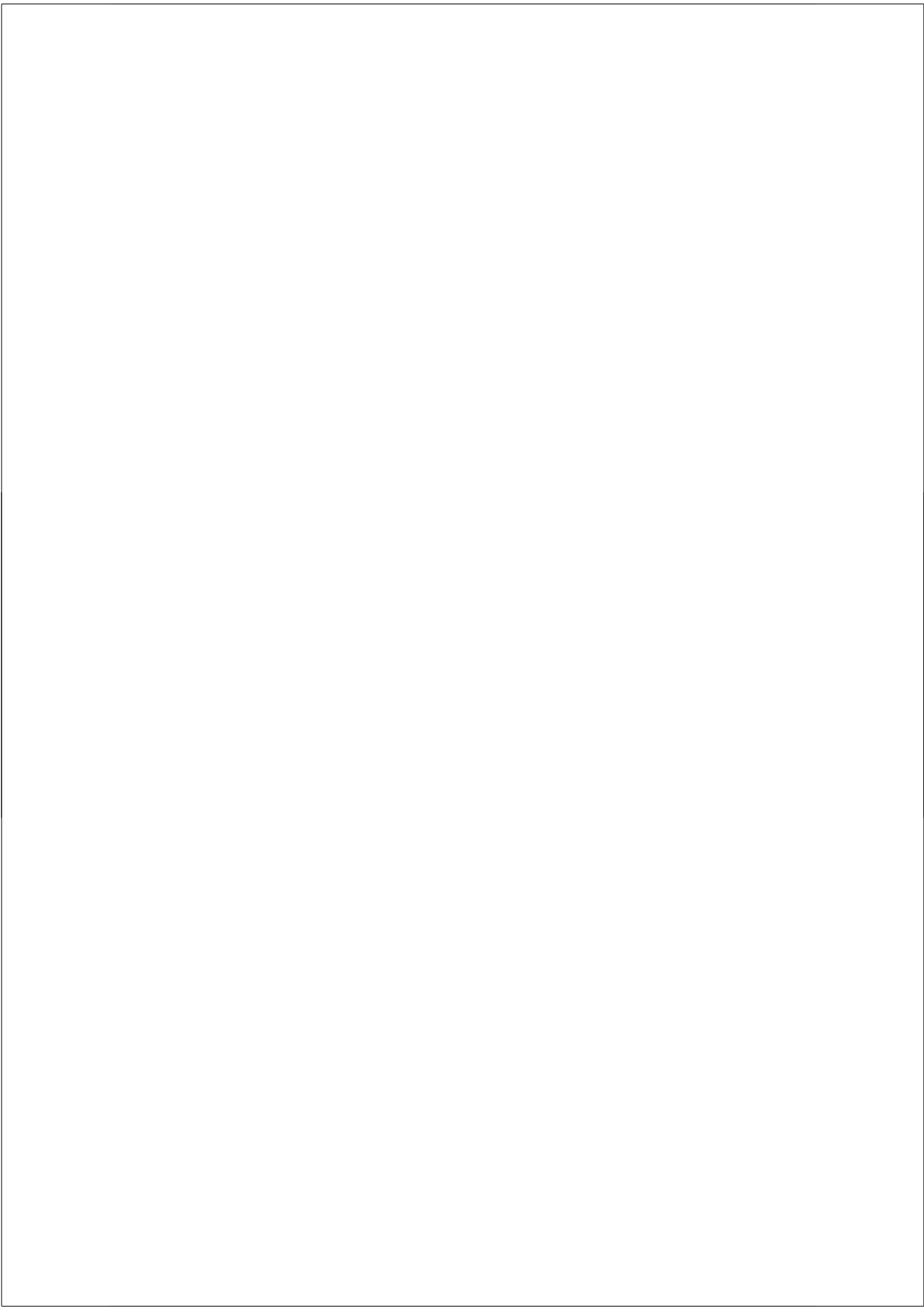
Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Chapter 8

Summary

Samenvatting





Summary

The metabolic syndrome is an increasing problem in our Western society. It involves multiple aspects like obesity, insulin resistance, dyslipidemia and low-grade chronic inflammation. Subsequently, it has a major impact on the development of atherosclerosis, therefore cardiovascular diseases. The aim of this thesis was to expand our knowledge of the different aspects of the metabolic syndrome at the molecular level, specifically the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), insulin resistance, low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) and atherosclerosis. For this purpose, we used different transgenic mouse models and an observational study with human subjects.

Obesity and insulin resistance are key components of the metabolic syndrome. Plasma PAI-1 levels are increased in patient with the metabolic syndrome. The increased plasma PAI-1 levels are suggested to be the result of increased expression in the vascular endothelium, adipose tissue and liver. However, it is not known if the clearance also contributes to the increased plasma PAI-1 levels. **Chapter 2** describes the clearance of plasma PAI-1 in a genetically and a diet-induced insulin resistant mouse models. We showed that increased plasma PAI-1 levels in diet-induced insulin resistant obese mice are not due to decreased plasma PAI-1 clearance. We also demonstrated plasma PAI-1 levels followed obesity and insulin resistance in time. These data suggest that PAI-1 is probably not causally involved in the development of insulin resistance. Increased PAI-1 levels might merely be an epiphenomenon in the setting of insulin resistance and obesity.

PAI-1 interacts with the low-density lipoprotein receptor (LDLR)-related protein (LRP) *in vitro*. A number of studies have shown that LRP can bind, internalise and degrade PAI-1 *in vitro*. However, it is not known whether LRP indeed plays a role in the clearance of plasma PAI-1 *in vivo*. **Chapter 3** addressed the role of hepatic LRP in the regulation of plasma PAI-1 *in vivo*. For this purpose, we studied the clearance of PAI-1 in hepatic LRP deficient mice under different conditions. We showed that hepatic LRP is not involved in the regulation or clearance of plasma PAI-1 levels. Additionally, we demonstrated that receptor-associated protein (RAP)-sensitive mechanism other than the very low density lipoprotein receptor (VLDLR) or the low density lipoprotein receptor (LDLR) is involved in the regulation of plasma PAI-1 levels.

Hepatic LRP deficient mice have elevated fasted plasma cholesterol and triglyceride levels, mainly present as VLDL particles on a LDLR-/-VLDL-/- background. Since VLDL is continuously produced in the liver, VLDL remnants still need to be cleared to maintain a steady state level. **Chapter 4** addressed the whether LPL activity is important for the hepatic clearance of VLDL remnants independent of the three major apoE-recognizing receptors LRP, LDLR and VLDLR. For this purpose, we used mice deficient of LRP, LDLR and VLDLR. We

demonstrated that the clearance of triglyceride (TG)-rich lipoproteins depends on the LPL activity and the non-specific receptors heparin sulfate proteoglycans (HSPG) and scavenger receptor BI (SR-BI) in the absence of the three major lipoprotein receptors LDLR, LRP and VLDLR.

LRP in the liver and SMC is shown to have atheroprotective role. Macrophages play a key role in the development of atherosclerosis next to SMC. Data from several *in vitro* studies suggest a pro-atherogenic of LRP in the macrophage. In **chapter 5** we investigated the role macrophage LRP in the development of atherosclerosis *in vivo*. We demonstrate that, independent of its role in lipoprotein uptake, absence of LRP in macrophages resulted in more advanced atherosclerosis and in lesions that contained more collagen and less CD3+ T cells. In contrast to previous *in vitro* studies, we conclude that macrophage LRP has an atheroprotective potential and may modulate the extracellular matrix in the atherosclerotic lesions.

Patients with the metabolic syndrome have chronic low-grade inflammation and increased risk for cardiovascular diseases. **Chapter 6** describes the influence of low-grade inflammation on the number of endothelial progenitor cells (EPCs) in patients with the metabolic syndrome. EPCs are thought to restore the endothelial layer when damaged. Here we demonstrated that increased low-grade inflammation as reflected by increased C-reactive protein (CRP) levels is accompanied by decreased numbers of EPCs and hemopoietic stem cells (HSCs) in subjects with the metabolic syndrome. Subjects with atherosclerotic plaques have also lower number of EPCs and HSCs as compared to subjects without atherosclerotic plaques. Therefore, low-grade inflammation is suggested to affect the vascular damage.

Taken together, the studies in this thesis contribute to understanding of the different molecular aspects of the metabolic syndrome, in particular PAI-1, insulin resistance, LRP and atherosclerosis. However, much further research is still needed to understand the metabolic syndrome and the subsequent cardiovascular diseases.

Samenvatting

Het metabool syndroom is een toenemend probleem in onze westerse samenleving. Verschillende aspecten zoals vetzucht, insuline resistentie, dyslipidemie and laag gradig chronische ontsteking. Het gevolg hiervan is dat het metabool syndroom grote impact heeft op de ontwikkeling van atherosclerose (aderverkalking) en daarmee ook hart- en vaatziekten. Het doel van dit proefschrift was de kennis van de verschillende aspecten van het metabool syndroom op het moleculaire niveau te vergroten. In het bijzonder worden de aspecten van plasminogeen activator inhibitor-1 (PAI-1), insuline resistentie, low-density lipoprotein receptor (LDLR)-related protein (LRP) en atherosclerose bestudeerd. Hiervoor hebben we gebruik gemaakt van verschillende transgene muismodellen en een observationele studie bij de mensen.

Overgewicht en insuline resistentie zijn de meest belangrijkste componenten van het metabool syndroom. Plasma PAI-1 concentraties zijn verhoogd in patiënten met het metabool syndroom. Deze verhoogde plasma PAI-1 concentraties van de plasma PAI-1 concentraties wordt beschouwd als het gevolg van toegenomen expressie door het vaatwand, de vetcellen en de lever. Het is echter nog niet bekend of de klaring van PAI-1 ook resulteert in verhoogde plasma PAI-1 concentraties. In **hoofdstuk 2** wordt de klaring van plasma PAI-1 in een genetisch en dieet geïnduceerde insuline resistent muis model bestudeerd. We hebben laten zien dat de toegenomen plasma PAI-1 concentraties in een dieet geïnduceerde insuline resistente obese muismodel niet verklaard kan worden door verminderde klaring van PAI-1. Daarnaast hebben we ook laten zien dat toename van plasma PAI-1 concentraties later ontstaat dan overgewicht en insuline resistentie in de tijd. Deze data suggereren dat PAI-1 waarschijnlijk niet causaal betrokken is bij de ontwikkeling van insuline resistentie. De waargenomen toegenomen PAI-1 concentraties kan mogelijk enkel een epifenomeen zijn in de setting van insuline resistentie en overgewicht.

Uit literatuur van *in vitro* studies is gebleken dat PAI-1 een interactie aangaat met LRP. Een aantal studies hebben laten zien dat LRP PAI-1 kan binden, opnemen en afbreken. Het is echter niet bekend welke rol LRP heeft in de klaring van PAI-1 *in vivo*. **Hoofdstuk 3** beschrijft de rol van de LRP in de lever in de regulatie van plasma PAI-1 *in vivo*. Hiervoor hebben we de klaring van PAI-1 in muizen zonder LRP in verscheidene condities bestudeerd. We hebben laten zien dat LRP in de LRP niet betrokken is bij zowel de regulatie als de klaring van plasma PAI-1. Bovendien laten we zien dat de receptor-associated protein (RAP) sensitieve mechanisme betrokken zijn bij de regulatie van plasma PAI-1. De RAP sensitieve receptoren LDLR en VLDLR zijn hierbij net als LRP niet betrokken.

Muizen met lever LRP deficiëntie hebben een verhoogde nuchter plasma cholesterol en triglyceride concentraties. De cholesterol en triglyceride in deze LRP deficiënte muizen zijn voornamelijk in VLDL partikels aanwezig op een LDLR-/- en VLDLR-/- achtergrond. Aan gezien VLDL partikels continu worden geproduceerd door de lever, moeten de afgebroken VLDL deeltjes nog steeds worden geklaard om een steady state niveau te behouden. In **hoofdstuk 4** wordt de activiteit van lipoproteïne lipase (LPL) in de klaring van de afgebroken VLDL deeltjes bestudeerd in de afwezigheid van LRP, LDLR en VLDLR, de drie belangrijkste apolipoproteïne E herkende receptoren. Hiervoor hebben we gebruik gemaakt van muizen die deficiënt zijn voor LRP, LDLR en VLDLR. We hebben laten zien dat de klaring van triglyceride rijke lipoproteïnes afhankelijk is van de activiteit van LPL en van heparin sulfat proteoglycanen (HSPG) en scavenger receptor B1 (SR-BI), de non-specifieke receptoren wanneer LRP, LDLR en VLDLR afwezig zijn.

LRP in de lever en in de gladde spiercellen hebben een beschermende rol in de ontwikkeling van atherosclerose. Macrofagen spelen naast de gladde spiercellen een centrale rol bij de ontwikkeling van atherosclerose. Data van verscheidene *in vitro* studies suggereren dat LRP in de macrofaag juist atherogeen is. In **hoofdstuk 5** hebben we de rol van LRP in de ontwikkeling van atherosclerose *in vivo* onderzocht. We hebben laten zien dat de afwezigheid van LRP in de macrofagen juist atherosclerose verergert. Hierbij was het lipoproteïne metabolisme onafhankelijk van LRP. De atherosclerotische plaques bevat meer collageen en minder CD3+ T cellen. In tegenstelling tot de *in vitro* studies, concluderen we dat LRP in de macrofagen een beschermende rol heeft in de ontwikkeling van atherosclerose mogelijk door het moduleren van de extracellulaire matrix in de atherosclerotische plaques.

Patiënten met het metabool syndroom hebben chronisch laaggradige ontsteking en verhoogde risico op hart- en vaatziekten. **Hoofdstuk 6** beschrijft het gevolg van laaggradige ontsteking op het aantal endotheliale voorloper cellen (EPC's) in patiënten met het metabool syndroom. EPC's herstellen het beschadigde endotheel. In dit hoofdstuk laten we zien dat verhoogd laaggradige ontsteking, weerspiegeld door verhoogde C-reactief proteïne (CRP) concentraties, is geassocieerd met verminderd aantal EPC en hemopoëtische stam cellen (HSC's) in mensen met het metabool syndroom. Mensen met atherosclerose hebben ook een lager aantal EPC's en HSC's in vergelijking met mensen zonder atherosclerose. Dit suggereert dat laaggradige ontsteking een invloed heeft op de beschadiging van het endotheel.

Concluderend, de studies beschreven in dit proefschrift leiden tot meer het begrip van de verschillende aspecten van het metabool syndroom, m.n. PAI-1, insuline resistentie, LRP en atherosclerose. Veel onderzoek is echter nog noodzakelijk om het metabool syndroom te begrijpen en daarmee haar hart- en vaatziekten.