



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Dyslipidemia at the crossroad of the skin barrier and the arterial wall

Martins Cardoso, R.

Citation

Martins Cardoso, R. (2021, October 5). *Dyslipidemia at the crossroad of the skin barrier and the arterial wall*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3214899>

Version: Publisher's Version

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

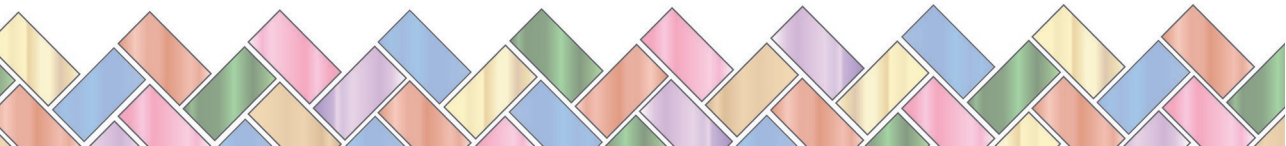
Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3214899>

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



Appendix

Nederlandse Samenvatting (Dutch Summary)



INTRODUCTIE

De huid vormt een essentiële fysieke barrière tussen het lichaam en de omgeving die het organisme beschermt tegen overmatig verlies van water en voedingsstoffen en het organisme beschermt tegen het binnendringen van chemicaliën en pathogenen¹. Een belangrijke speler in deze beschermende rol is de buitenste laag van de huid - het stratum corneum (SC). Het SC is samengesteld uit corneocyten (dode huidcellen) ingebed in een lipidenmatrix die voornamelijk bestaat uit cholesterol, ceramiden en vrije vetzuren¹. De huidbarrièrefunctie is afhankelijk van de samenstelling en rangschikking (genoemd organisatie) van de lipiden in de matrix in het SC²⁻⁷. De SC barrièrelipiden worden voornamelijk gesynthetiseerd door keratinocyten tijdens hun differentiatieproces met als eindproduct de corneocyten. Extracutane lipiden (bijv. lipoproteïnen) worden ook in de huid opgenomen en kunnen bijdragen aan de vorming van de SC lipidenpoel⁸⁻¹². Het samenspel tussen de lokale lipiden synthese in de huid en de opname van extracutane lipiden is nog niet uitgebreid onderzocht.

In het plasma worden lipiden voornamelijk getransporteerd van en naar perifere weefsels door lipoproteïnen. De vier hoofdgroepen zijn chylomicronen, lipoproteïnen met zeer lage dichtheid (VLDL), lipoproteïnen met lage dichtheid (LDL) en lipoproteïnen met hoge dichtheid (HDL). Een verstoord metabolisme van deze lipoproteïnen leidt tot abnormale concentraties lipiden in het plasma, ook wel genoemd dyslipidemie. De meest voorkomende vorm van dyslipidemie is hyperlipidemie, een aandoening die wordt gekenmerkt door een toename van circulerende lipoproteïnen en lipiden in het plasma als gevolg van genetische mutaties (bijv., Familiaire hypercholesterolemie; FH) of een andere onderliggende etiologie (bijv., Diabetes, slechte levensstijl en ongezond dieet)¹³. Hyperlipidemie is een belangrijke risicofactor voor het ontstaan van atherosclerose, een belangrijke oorzaak van hart- en vaatziekten¹³. Atherosclerose is een pathologie die wordt gekenmerkt door de vorming van lipiden plaque(s) in de arteriële wand veroorzaakt door een chronische immuunreactie waar een verstoord cholesterolmetabolisme aan ten grondslag ligt. Na verloop van tijd kunnen deze lipidenplaques de slagaders verhard en vernauwen, de bloedstroom en zuurstoftoevoer verstoren en een risico vormen voor de vorming van thrombus en het optreden van beroertes, en/of een myocardinfarct.

Liver-X-receptor (LXR) is een nucleaire receptor die een relevante rol speelt bij het vetmetabolisme en ontsteking¹⁴⁻¹⁷. In de context van atherosclerose kan "activatie" van LXR door synthetische agonisten (bijv. GW3965) de plaqueontwikkeling beïnvloeden door (1) het bevorderen van cholesteroltransport van vetrijke macrofagen (schuimcellen) terug naar de lever en (2) door algemene remming van pro-inflammatoire genen¹⁵.

Directe systemische toediening van LXR-agonisten heeft echter een negatieve invloed op synthese van lipiden door de lever en kan hypertriglyceridemie induceren^{17,18}. Daarom is een deel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift gericht op het verpakken van een LXR-agonist in specifieke afgiftesystemen, met als doel een verhoogde aflevering van het medicament in macrofagen in de plaques.

Naast het verhoogde risico op het ontwikkelen van atherosclerose, kunnen personen met hyperlipidemie (familiaal of verworven) na verloop van tijd gele, cholesterolrijke afzettingen (xanthomen) ontwikkelen in de huid rond hun ogen of gewrichten¹⁹⁻²¹. Xanthomen zijn bekende dermatologische symptomen van onderliggende lipidenstoornissen²⁰. Ondanks de cruciale rol van lipiden in de huid, is het verband tussen dyslipidemie en lipidenhomeostase van de huid onduidelijk. In dit proefschrift hebben we deze relatie onderzocht om er achter te komen of en hoe veranderingen in het cholesterolgehalte in het plasma op jonge leeftijd de lipiden synthese en/of de samenstelling van barrièrelipiden verandert voorafgaand aan de ontwikkeling van xanthomen (of andere dermatologische aandoeningen) en atherosclerose. Ten slotte hebben we de interactie onderzocht van de synthetische peptide Lyp-1 met de p32-receptor die tot expressie wordt gebracht op met lipiden beladen macrofagen in atherosclerotische plaques^{22,23}. We concentreerden ons op Lyp-1 als een peptide geassocieerd met liposomen om de daarin verpakte LXR-agonist GW3965 specifiek af te leveren aan de atherosclerotische plaques in hypercholesterolemische muizen.

SAMENVATTING

De impact van dyslipidemia op de huid

Hypercholesterolemie

Hypercholesterolemie (hoge cholesterol niveaus in plasma) werd in het onderzoek beschreven in dit proefschrift onderzocht omdat het wereldwijd de meest voorkomende vorm van dyslipidemie is. Familiaire hypercholesterolemie (FH) is een bepaald type genetische lipoproteïnestoornis die leidt tot hoge concentraties van apolipoproteïne B-bevattende lage dichtheidslipoproteïnen in plasma. Met een algemene gerapporteerde prevalentie van 1:311 is FH één van de meest voorkomende genetische aandoeningen bij de bevolking, met een vergelijkbare verspreiding over de hele wereld²⁴. Hoewel een hoog cholesterolgehalte op jonge leeftijd meestal geen specifieke klachten veroorzaakt, ontwikkelen FH-patiënten op de lange termijn vaak xanthomen rond de oogleden, gewrichten, pezen en zelfs in de rand van de iris²⁵⁻²⁷. Deze dermatologische symptomen zijn vaak de eerste indicatie van hypercholesterolemie, een belangrijke risicofactor

voor de ontwikkeling van atherosclerose op jonge leeftijd, zoals eerder beschreven.

In **Hoofdstuk 2** hebben we de huid van jonge volwassen lage dichtheidslipoproteïne receptor knockout (*LDLR*^{-/-}) en apolipoproteïne E knockout (*APOE*^{-/-}) muizen onderzocht. Zowel *LDLR*^{-/-} als *APOE*^{-/-} muizen zijn bekende hypercholesterolemische muismodellen en er is beschreven dat hun huid, analoog aan mensen met deze aandoening, xanthomen ontwikkelt bij langdurige voeding met een hoog vet/hog cholesterolgehalte of bij veroudering. Bij een vetarm/cholesterolarm dieet leidt *LDLR* deficiëntie tot een milde hypercholesterolemie met voornamelijk ophoping van LDL in het plasma. Daarentegen ontwikkelen *APOE*^{-/-} muizen een ernstiger hypercholesterolemisch profiel met een duidelijke toename van de VLDL fracties. Uit analyse van de epidermale lipidensamenstelling bleek dat ernstige systemische hypercholesterolemie bij jongvolwassen *APOE*^{-/-} muizen het vrije vetzuren-profiel beïnvloedt waardoor de epidermale barrièrefunctie vermindert. De epidermis van de *APOE*^{-/-} muizen was verrijkt met korte keten vrije vetzuren (minder dan 24 koolstofatomen) en onverzadigde vrije vetzuren, terwijl de lipidensamenstelling in de epidermis van de milde hypercholesterolemische *LDLR*^{-/-} muizen niet veranderde. Het genregulatie profiel waargenomen in de huid van *APOE*^{-/-} muizen wijst op een compenserende neerwaartse regulatie van de expressie van genen die betrokken zijn bij de synthese van cholesterol en vetzuren als reactie op de verhoogde lokale niveaus van cholesterol en vrije vetzuren. Ten slotte resulteerde de veranderde vrije vetzurenpoel in de epidermis van *APOE*^{-/-} muizen in een verminderde huidbarrièrefunctie, zoals blijkt uit een verhoogd transepidermaal waterverlies. Kortom, uit deze studie blijkt dat de ernst van de hypercholesterolemie bij muizen kan bijdragen aan de flux van extracutane lipiden in de huid, waardoor het de epidermale lipidensamenstelling en de functionaliteit van de huidbarrière al op jonge leeftijd beïnvloedt. Onze bevindingen suggereren dat de huid van hypercholesterolemische personen met FH mogelijk al aan een veranderde lipidensamenstelling onderhevig is voordat de xanthomen of cardiovasculaire complicaties zich ontwikkelen, waardoor mogelijk de barrièrefunctie vermindert.

Hypercholesterolemische plasmaprofielen kunnen ook het gevolg zijn van accumulatie van lipoproteïnen met apolipoproteïne A (APOA) als structurele eiwitcomponent, wat leidt tot hyper-alfalipoproteïnemie. Genetische factoren zoals deficiëntie van cholesterylester transfer proteïne (CETP) of zeldzame mutaties in scavenger receptor klasse BI (SR-BI) worden beschreven als oorzaken van hyper-alfalipoproteïnemie met opvallende toename van HDL-cholesterol concentraties bij mensen²⁸⁻³⁰. In tegenstelling tot FH-patiënten worden bij hyper-alfalipoproteïnemische patiënten geen xanthomen gemeld³¹. De huid is echter één van de grootste reservoirs van HDL in het lichaam;

hyper-alfalipoproteïnemie kan dus de lipidenhomeostase van de huid beïnvloeden³².

In het onderzoek beschreven in **Hoofdstuk 3** hebben we daarom onderzocht of de hypercholesterolemie veroorzaakt door hyperalphalipoproteïnemie ook de epidermale lipidenpoel zou kunnen beïnvloeden. Voor dit doel gebruikten we jongvolwassen (16-18 weken oud) *SR-BI*^{-/-} muizen, een hypercholesterolemisch muismodel van hyper-alfalipoproteïnemie, waarbij de klaring van HDL-deeltjes door de lever is belemmerd, evenals hun opname door steroïdogene weefsels³³⁻³⁵. Met name het niveau van CE getransporteerd in lipoproteïnen in *SR-BI*^{-/-} muizen is significant hoger dan het niveau gerapporteerd voor *LDLR*^{-/-} muizen, maar niet zo ernstig als waargenomen in de *APOE*^{-/-} muizen (**Hoofdstuk 2**). Ondanks de beschermende rol van HDL bij het transport van cholesterol van perifere weefsels naar de lever had hyper-alfalipoproteïnemie een negatieve invloed op de epidermale vrije vetzuren-samenstelling van de *SR-BI*^{-/-} muizen. Hoewel in mindere mate dan gerapporteerd voor de huid van *APOE*^{-/-} muizen, werd ook het relatieve percentage onverzadigde en vrije vetzuren-soorten met een korte koolstofketen, inclusief vrij vetzuur C18:1 was verhoogd in de epidermis van *SR-BI*^{-/-} muizen in vergelijking met de normolipidemische wild-type controles. Net als bij *APOE*^{-/-} muizen, vertoonde het genregulatie profiel van de huid van *SR-BI*^{-/-} muizen lagere niveaus van mRNA van die genen welke coderen voor enzymen die betrokken zijn bij de synthese van vrije vetzuren en cholesterol en voor receptoren die betrokken zijn bij de opname van lipoproteïnen. Belangrijk is dat we hebben aangetoond dat de waargenomen samenstelling veranderingen van epidermale lipiden nauw gecorreleerd zijn met de lipiden concentraties in plasma. Ze zijn minder afhankelijk zijn van de specifieke lipoproteïnegroep die betrokken is bij het transport van de lipiden. Hoewel dermatologische symptomen (bijv. xanthomen) niet zijn beschreven bij patiënten met hyper-alfalipoproteïnemie, laten onze studies zien dat de huid negatief wordt beïnvloed door de veranderingen in het plasmalipidenprofiel. Daarom is het belangrijk om extra aandacht te besteden aan de huid van deze patiënten om de ontwikkeling van dermatologische afwijkingen te voorkomen.

Hypolipidemie

Uiteraard kan dyslipidemie ook verwijzen naar verlaagde concentraties plasmalipiden, namelijk hypolipidemie, wat ook veroorzaakt kan worden door bepaalde genetische afwijkingen. Mutaties in APOAI kunnen de vorming van HDL ernstig beïnvloeden, wat leidt tot een vrijwel volledige afwezigheid van deze deeltjes, een verlaagd cholesterol in het plasma (vooral lagere CE-waarden) en een verhoogd risico op hart- en vaatziekten³⁶⁻⁴¹. In het onderzoek beschreven in **Hoofdstuk 4** hebben we de gevolgen van een HDL-gedreven hypolipidemie (hypo-alfalipoproteïnemie) op

de lipidsamenstelling van de huidbarrière van *APOA1*^{-/-} muizen onderzocht. Hypo-alfalipoproteïnemie bij de *APOA1*^{-/-} muizen had geen invloed op de morfologie van de huid of het epidermale lipidenprofiel. De mRNA-expressie van verschillende genen die betrokken zijn bij de synthese van lipiden en opname van lipoproteïnen was echter verhoogd in de huid van deze muizen (bijv. *HMGCR*, *LDLR*, *FAS*, *SR-BI*). Dit suggereert dat de neerwaartse regulering van *DGAT2* (diacylglycerol O-acyltransferase 2) mRNA-niveaus in de huid van deze muizen een vermindering in de opslag van vetzuren in de vorm van triglyceriden veroorzaakt. Samenvattend, laat ons onderzoek zien dat (1) HDL-deeltjes niet cruciaal zijn voor het transport van cholesterol vanuit de huid naar de lever, maar in plaats daarvan (2) juist bijdragen aan de afgifte van essentiële lipiden aan de huid. Belangrijk is dat de epidermale lipidenbarrière kan worden gehandhaafd door een compenserende toename van de lokale lipidsynthese en opname van lipiden uit apolipoproteïne B-bevattende lipoproteïnen in de afwezigheid van HDL.

De relevantie van de huid voor onderzoek – een vergelijking van de barrièrelipiden profielen

De onderzoeken die in de vorige paragrafen (**Hoofdstukken 2-4**) zijn beschreven, werden uitgevoerd met behulp van de rughuid van de muizen, aangezien dit gebied een voldoende groot oppervlakte heeft voor het doen van de betreffende analyses. Naast de huid van de rug wordt echter ook vaak huid van het oor gebruikt voor onderzoek in muismodellen. Echter verschillen deze locaties sterk in de dichtheid van haarzakjes en het aantal cellagen in het SC. Bovendien kunnen deze huidlocaties verschillende effecten/fenotypes opleveren met betrekking tot bijvoorbeeld medicamenteuze behandeling en weefselregeneratiestudies⁴²⁻⁴⁴. Ondanks deze verschillen is er weinig informatie beschikbaar over de samenstelling van hun lipidenbarrière en eventuele verschillen daarin. Vooral over de epidermis van het oor is nog weinig informatie beschikbaar.

In **Hoofdstuk 5** laten we zien dat de epidermale lipidsamenstelling en het mRNA-genexpressieprofiel fundamenteel verschillen tussen oor- en rughuid van de muis in een normolipidemische achtergrond. In vergelijking met de epidermis van de rug is er een hogere fractie onverzadigde vetzuren en ceramiden (vooral ceramiden met een sfingo base) in de epidermis van de oren. De oorhuid is ook verrijkt met korte keten vrije vetzuren en korte keten (33-34 koolstofatomen) ceramiden. Verder blijkt uit onderzoek beschreven in **Hoofdstuk 5** dat de huid van het oor bij *APOE*^{-/-} muizen marginaal reageerde op hypercholesterolemie in vergelijking met de rughuid bij *APOE*^{-/-} muizen⁴⁵. Het epidermale vrije vetzurenprofiel van de oren van normolipidemische en hypercholesterolemische muizen was redelijk vergelijkbaar, met slechts een minimale

toename van het totale percentage van de vrije vetzuren-soorten met een korte keten. Uit deze bevindingen blijkt dat de huid van de rug van muizen waarschijnlijk een actievere metabole plaats is in vergelijking met de huid van het oor en dat deze plaatsen anders reageren op specifieke behandelingen die tot verschillende resultaten kunnen leiden, zoals eerder gerapporteerd⁴²⁻⁴⁴. De selectie van de plek van de huid voor onderzoek kan dus impact hebben op de uitkomst en moet zorgvuldig worden overwogen.

Lyp-1: klein peptide om liposomen te gericht te sturen naar macrofagen in atherosclerotische laesies

Naast de effecten op de huid is hypercholesterolemie een belangrijke risicofactor voor atherosclerose, een ziekte die wordt gekenmerkt door de pathologische vernauwing van grote en middelgrote slagaders⁴⁶. Het begin en de ontwikkeling van deze pathologie wordt voornamelijk gedreven door de ophoping van lipiden (LDL en andere gemodificeerde lipoproteïnen) in macrofagen in de intima van deze bloedvaten, wat leidt tot de vorming van atherosclerotische plaques⁴⁶⁻⁴⁸. Het onderzoek beschreven in **Hoofdstuk 6** heeft als doel een liposoomformulering te ontwikkelen die LXR-agonist GW3965 gericht aflevert aan macrofagen in atherosclerotische plaques met als beoogd gevolg verhoging van het cholesterol transport uit de macrofagen en bevordering van plaquestabilisatie⁴⁹⁻⁵¹. Atherosclerotische plaques vertonen een hoge expressie van C1q-bindend eiwit, ook bekend als p32, met name in vetrijke macrofagen (schuimcellen)^{22,23}. Lyp-1 is een klein cyclisch peptide (CGNKRTRGC) waarvan bekend is dat het bindt aan p32²². Tot op heden is het potentieel van Lyp-1 als richtmolecuul vooral onderzocht voor plaque-beeldvormingsdoeleinden^{52,53}. In onze studie was liposoomfunctionalisatie met Lyp-1 de belangrijkste strategie om het zo specifiek mogelijk GW3965 naar macrofagen in de atherosclerotische plaques te kunnen sturen en daarnaast om ook de retentietijd van de liposomen in de plaque te verlengen. Hoewel er in deze studie geen effect op de plaquegrootte werd waargenomen, had de muizengroep die met GW3965-geladen Lyp-1-liposomen was behandeld, een verlaagd gehalte aan plaque-macrofagen en een verbeterde plakstabiliteit, zoals bleek uit een verhoogd collageengehalte. Bovendien had de behandeling met de gefunctionaliseerde GW3965-geladen liposomen geen invloed op het gehalte aan lipiden in de lever en serum. Liposomen, gefunctionaliseerd met Lyp-1, zijn dus een waardevol hulpmiddel om de werkzaamheid en effecten van GW3965 te verhogen en zo macrofaag-schuimcellen in de atherosclerotische laesies aan te pakken, wat de weg vrijmaakt voor de ontwikkeling van betere therapieën voor atherosclerose.

DISCUSSIE EN PERSPECTIEVEN

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift verbreedt onze kennis omtrent de kwaliteit

van leven van individuen met dyslipidemie. Het geeft inzicht in de lipidenhomeostase in de huid, kennis die mogelijk kan bijdragen aan de ontwikkeling van zo optimaal mogelijke behandeling van dyslipidemie patiënten met dermatologische aandoeningen.

De bevindingen die in dit proefschrift zijn beschreven zijn gericht op onderzoek in dyslipidemische muismodellen en kunnen niet rechtstreeks worden toegepast op de menselijke situatie, zonder verdere studies. Muizen en mensen vertonen overeenkomsten en verschillen in alle onderzoeksaspecten van dit proefschrift (huid, lipidenmetabolisme, en de ontwikkeling van atherosclerose)⁵⁴⁻⁵⁷. Uit zowel plasma- als huid lipidomics blijken verschillen en overeenkomsten tussen muizen en mensen. Evenzo hebben muismodellen, met de eventuele beperkingen, een belangrijke bijdrage geleverd om processen betrokken bij de ontwikkeling van atherosclerose in mensen beter te begrijpen. Dit is uiteraard met in acht neming van de convergerende en uiteenlopende kenmerken tussen mensen en de verschillende diermodellen⁵⁴. Bovendien is het ook belangrijk ons te realiseren dat, hoewel dit aspect niet diepgaand wordt onderzocht in dit proefschrift, de huid een actief immunologisch orgaan is en dat muizen en mensen convergente en divergerende immunologische profielen vertonen waarmee bij de translatie van bevindingen in de muis naar de mens rekening gehouden moet worden⁵⁸. Belangrijk is dat deze verschillen het gebruik van muismodellen niet mogen ontmoedigen, aangezien muismodellen enorm hebben bijgedragen aan de baanbrekende ontdekkingen in de onderzoeksgebieden die in dit proefschrift zijn beschreven. Het bewustzijn van deze verschillen is belangrijk om experimenten optimaal te ontwerpen en met de toekomstige bevindingen daarna de juiste vertaalslag naar de menselijke situatie te maken. Ten slotte, voor het toepassen van de bevindingen beschreven in dit proefschrift, zou het onderzoeken de barrièrefunctie en de lipidensamenstelling en organisatie in de huid bij personen die lijden aan FH een belangrijke stap zijn. De gegevens die in een dergelijke studie worden gegenereerd, zouden de eerste stap zijn om de translationele waarde van dyslipidemische muizenmodellen aangaande de relatie tussen de huid, het plasma en dyslipidemische pathologieën beter te leren begrijpen.

Samenvattend, het onderzoek beschreven in dit proefschrift laat zien dat hypercholesterolemie, een bekende risicofactor voor atherosclerose, al op jonge leeftijd invloed kan hebben op de lipidenpoel en de barrièrefunctie van de huid. Opheldering van de mechanismen die ten grondslag liggen aan deze relatie tussen het plasma en de huid biedt ook waardevolle aanknopingspunten om dermatologische pathologieën bij dyslipidemische patiënten te voorkomen en/of te behandelen; misschien in combinatie met anti-atherogene therapieën. Met vergroting van de kennis en inzicht in de betrokken processen, kan op termijn het advies aan patiënten worden verbeterd met uiteindelijk een verbetering van de kwaliteit van leven tot gevolg.

REFERENCES

1. Elias, P. M. Stratum corneum defensive functions: An integrated view. *J. Invest. Dermatol.* 125, 183–200 (2005).
2. Janssens, M. et al. Increase in short-chain ceramides correlates with an altered lipid organization and decreased barrier function in atopic eczema patients. *J. Lipid Res.* 53, 2755–2766 (2012).
3. Thakoersing, V. S. et al. Modulation of stratum corneum lipid composition and organization of human skin equivalents by specific medium supplements. *Exp. Dermatol.* 24, 669–674 (2015).
4. van Smeden, J. et al. The importance of free fatty acid chain length for the skin barrier function in atopic eczema patients. *Exp. Dermatol.* 23, 45–52 (2014).
5. White, S. H., Mirejovsky, D. & King, G. I. Structure of lamellar lipid domains and corneocyte envelopes of murine stratum corneum. An x-ray diffraction study. *Biochemistry* 27, 3725–3732 (1988).
6. Boncheva, M., Damien, F. & Normand, V. Molecular organization of the lipid matrix in intact Stratum corneum using ATR-FTIR spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* 1778, 1344–1355 (2008).
7. Bouwstra, J., Gooris, G. & Ponc, M. The lipid organisation of the skin barrier: liquid and crystalline domains coexist in lamellar phases. *J. Biol. Phys.* 28, 211–23 (2002).
8. Haruta-Ono, Y. et al. Orally administered sphingomyelin in bovine milk is incorporated into skin sphingolipids and is involved in the water-holding capacity of hairless mice. *J. Dermatol. Sci.* 68, 56–62 (2012).
9. Bhattacharyya, A. K., Connor, W. E. & Spector, A. A. Excretion of sterols from the skin of normal and hypercholesterolemic humans. Implications for sterol balance studies. *J. Clin. Invest.* 51, 2060–70 (1972).
10. Khnykin, D., Miner, J. H. & Jahnsen, F. Role of fatty acid transporters in epidermis: Implications for health and disease. *Dermatoendocrinol.* 3, 53–61 (2011).
11. Hansen, H. S. & Jensen, B. Essential function of linoleic acid esterified in acylglucosylceramide and acylceramide in maintaining the epidermal water permeability barrier. Evidence from feeding studies with oleate, linoleate, arachidonate, columbinat and α -linolenate. *Biochim. Biophys. Acta - Lipids Lipid Metab.* 834, 357–363 (1985).
12. Bibel, D. J. et al. Antimicrobial Activity of Stratum Corneum Lipids from Normal and Essential Fatty Acid-Deficient Mice. *J. Invest. Dermatol.* 92, 632–638 (1989).

13. Nelson, R. H. Hyperlipidemia as a Risk Factor for Cardiovascular Disease. *Prim. Care Clin. Off. Pract.* 40, 195–211 (2013).
14. Wang, B. & Tontonoz, P. Liver X receptors in lipid signalling and membrane homeostasis. *Nat. Rev. Endocrinol.* 14, 452–463 (2018).
15. Im, S.-S. & Osborne, T. F. Liver X Receptors in Atherosclerosis and Inflammation. *Circ. Res.* 108, 996–1001 (2011).
16. Schulman, I. G. Liver X receptors link lipid metabolism and inflammation. *FEBS Lett.* 591, 2978–2991 (2017).
17. Zhang, Y. et al. Liver LXRA expression is crucial for whole body cholesterol homeostasis and reverse cholesterol transport in mice. *J. Clin. Invest.* 122, 1688–1699 (2012).
18. Heckmann, B. L. et al. Liver X receptor α mediates hepatic triglyceride accumulation through upregulation of G0/G1 Switch Gene 2 expression. *JCI Insight* 2, (2017).
19. Sugiyama, N. et al. Immunohistochemical distribution of lipoprotein epitopes in xanthomata from patients with familial hypercholesterolemia. *Am. J. Pathol.* 141, 99–106 (1992).
20. Dwivedi, S. Cutaneous markers of coronary artery disease. *World J. Cardiol.* 2, 262 (2010).
21. Shenoy, C., Shenoy, M. & Rao, G. Dyslipidemia in dermatological disorders. *N. Am. J. Med. Sci.* 7, 421 (2015).
22. Hamzah, J. et al. Specific penetration and accumulation of a homing peptide within atherosclerotic plaques of apolipoprotein E-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 7154–7159 (2011).
23. Peerschke, E. et al. Expression of gC1q-R/p33 and its major ligands in human atherosclerotic lesions. *Mol. Immunol.* 41, 759–766 (2004).
24. Hu, P. et al. Prevalence of Familial Hypercholesterolemia Among the General Population and Patients With Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Circulation* 141, 1742–1759 (2020).
25. Ohshiro, T., Shimabukuro, T., Sunagawa, M. & Ohta, T. An 11-year-old boy with familial hypercholesterolemia showing multiple xanthomas and advanced atherosclerosis, who responded to lipid-lowering therapy using statin. *J. Atheroscler. Thromb.* 16, 698–701 (2009).

26. Aljenedil, S., Ruel, I., Watters, K. & Genest, J. Severe xanthomatosis in heterozygous familial hypercholesterolemia. *J. Clin. Lipidol.* 12, 872–877 (2018).
27. Palacio, C. H., Harring, T. R., Nguyen, N. T. T., Goss, J. A. & O'Mahony, C. A. Homozygous familial hypercholesterolemia: case series and review of the literature. *Case Rep. Transplant.* 2011, 154908 (2011).
28. Hirano, K. et al. Disease-associated marked hyperalphalipoproteinemia. *Mol. Genet. Metab. Reports* 1, 264–268 (2014).
29. Oates, C. P. et al. Novel polymorphisms associated with hyperalphalipoproteinemia and apparent cardioprotection. *J. Clin. Lipidol.* 12, 110–115 (2018).
30. Helgadottir, A. et al. Rare SCARB1 mutations associate with high-density lipoprotein cholesterol but not with coronary artery disease. *Eur. Heart J.* 39, 2172–2178 (2018).
31. Miettinen, H. E. et al. Molecular Genetic Study of Finns With Hypoalphalipoproteinemia and Hyperalphalipoproteinemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 18, 591–598 (1998).
32. Randolph, G. J. & Miller, N. E. Lymphatic transport of high-density lipoproteins and chylomicrons. *J. Clin. Invest.* 124, 929–935 (2014).
33. Acton, S. et al. Identification of Scavenger Receptor SR-BI as a High Density Lipoprotein Receptor. *Science* (80-.). 271, 518–520 (1996).
34. Rigotti, A. et al. A targeted mutation in the murine gene encoding the high density lipoprotein (HDL) receptor scavenger receptor class B type I reveals its key role in HDL metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 12610–12615 (1997).
35. Brodeur, M. R., Luangrath, V., Bourret, G., Falstraull, L. & Brissette, L. Physiological importance of SR-BI in the in vivo metabolism of human HDL and LDL in male and female mice. *J. Lipid Res.* 46, 687–696 (2005).
36. Sorci-Thomas, M. G. & Thomas, M. J. The Effects of Altered Apolipoprotein A-I Structure on Plasma HDL Concentration. *Trends Cardiovasc. Med.* 12, 121–128 (2002).
37. Chroni, A., Duka, A., Kan, H.-Y., Liu, T. & Zannis, V. I. Point Mutations in Apolipoprotein A-I Mimic the Phenotype Observed in Patients with Classical Lecithin:Cholesterol Acyltransferase Deficiency †. *Biochemistry* 44, 14353–14366 (2005).

38. Huang, W. et al. A Novel Homozygous Missense Mutation in the Apo A-I Gene With Apo A-I Deficiency. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 18, 389–396 (1998).
39. Miettinen, H. E. et al. Apolipoprotein A-I FIN (Leu159→Arg) Mutation Affects Lecithin. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17, 3021–3032 (1997).
40. Hovingh, G. K. et al. A novel apoA-I mutation (L178P) leads to endothelial dysfunction, increased arterial wall thickness, and premature coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 44, 1429–1435 (2004).
41. Plump, A. S. et al. ApoA-I knockout mice: Characterization of HDL metabolism in homozygotes and identification of a post-RNA mechanism of apoA-I up-regulation in heterozygotes. *J. Lipid Res.* 38, 1033–1047 (1997).
42. Madsen, M., Pedersen, T. X., Nielsen, L. B., Johansen, C. & Hansen, P. R. Differential Effects of Digoxin on Imiquimod-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation on the Ear and Back. *Ann. Dermatol.* 30, 485 (2018).
43. Nguyen, T. & Wei, M. L. Hermansky-Pudlak HPS1/pale ear Gene Regulates Epidermal and Dermal Melanocyte Development. *J. Invest. Dermatol.* 127, 421–428 (2007).
44. Metcalfe, A. D., Willis, H., Beare, A. & Ferguson, M. W. J. Characterizing regeneration in the vertebrate ear. *J. Anat.* 209, 439–446 (2006).
45. Martins Cardoso, R. et al. Hypercholesterolemia in young adult APOE $-/-$ mice alters epidermal lipid composition and impairs barrier function. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* 1864, (2019).
46. Pirillo, A., Norata, G. D. & Catapano, A. L. LOX-1, OxLDL, and Atherosclerosis. *Mediators Inflamm.* 2013, 1–12 (2013).
47. Tabas, I. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis. *Nat. Rev. Immunol.* 10, 36–46 (2010).
48. Chistiakov, D. A., Melnichenko, A. A., Myasoedova, V. A., Grechko, A. V. & Orekhov, A. N. Mechanisms of foam cell formation in atherosclerosis. *J. Mol. Med.* 95, 1153–1165 (2017).
49. Collins, J. L. et al. Identification of a Nonsteroidal Liver X Receptor Agonist through Parallel Array Synthesis of Tertiary Amines. *J. Med. Chem.* 45, 1963–1966 (2002).
50. Levin, N. et al. Macrophage Liver X Receptor Is Required for Antiatherogenic Activity of LXR Agonists. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 135–142 (2005).

51. Kirchgessner, T. G. et al. Beneficial and Adverse Effects of an LXR Agonist on Human Lipid and Lipoprotein Metabolism and Circulating Neutrophils. *Cell Metab.* 24, 223–233 (2016).
52. Uchida, M. et al. Protein Cage Nanoparticles Bearing the LyP-1 Peptide for Enhanced Imaging of Macrophage-Rich Vascular Lesions. *ACS Nano* 5, 2493–2502 (2011).
53. Seo, J. W. et al. 64 Cu-Labeled LyP-1-Dendrimer for PET-CT Imaging of Atherosclerotic Plaque. *Bioconjug. Chem.* 25, 231–239 (2014).
54. Kaabia, Z. et al. Plasma lipidomic analysis reveals strong similarities between lipid fingerprints in human, hamster and mouse compared to other animal species. *Sci. Rep.* 8, 15893 (2018).
55. Zomer, H. D. & Trentin, A. G. Skin wound healing in humans and mice: Challenges in translational research. *J. Dermatol. Sci.* 90, 3–12 (2018).
56. von Scheidt, M. et al. Applications and Limitations of Mouse Models for Understanding Human Atherosclerosis. *Cell Metab.* 25, 248–261 (2017).
57. Schneider, M. R. Genetic mouse models for skin research: Strategies and resources. *genesis* 50, 652–664 (2012).
58. Mestas, J. & Hughes, C. C. W. Of Mice and Not Men: Differences between Mouse and Human Immunology. *J. Immunol.* 172, 2731–2738 (2004).

