

Samenvatting proefschrift Torsten Plösch

(promotor: prof. F. Kuipers, RUG; co-promotor: dr. A.K. Groen, AMC)

Cholesterol vervult een aantal belangrijke fysiologische functies in het lichaam van zoogdieren, als belangrijk bestanddeel van de celmembraan, precursor van steroïdhormonen en van galzouten. Bronnen van cholesterol zijn het dieet en de endogene synthese, waarbij de endogene synthese in de mens het meest belangrijk is. Ondanks zijn onmisbare rol in het lichaam vormt cholesterol een potentiële bedreiging van de gezondheid. Het is gebleken dat verhoogde plasma cholesterolconcentraties, in het bijzonder in de “Low-Density-Lipoprotein” (LDL) fractie, geassocieerd zijn met een verhoogd risico op het ontstaan van atherosclerose. Dit is een gevolg van ophoping van cholesterol in macrofagen in de bloedvaatwand, hetgeen een eerste stap is in het ontstaan van de atherosclerotische plaque.

Er zijn verschillende mechanismen om de cholesterolhomeostase in cellen te handhaven. Enerzijds wordt de expressie van enzymen die bij de synthese van cholesterol en galzouten (alleen in levercellen) betrokken zijn op een aantal niveau's gereguleerd. Daardoor kan zowel de aanmaak als de afbraak van cholesterol worden gecontroleerd. Ten tweede wordt ook de expressie van transporteiwitten gereguleerd, die de opname, intracellulair transport en uitscheiding van cholesterol verzorgen. Op deze manier worden óók de fluxen van cholesterol in het lichaam strikt gecontroleerd. Genexpressie van de belangrijkste transporteiwitten, behandeld in dit proefschrift, wordt vooral gereguleerd door de transcriptie factor *Liver-X-Receptor (LXR)*. Deze receptor “meet” het niveau van geoxideerde cholesterolderivaten, de zogenaamde oxysterolen, en daarmee indirect de cholesterolconcentratie binnen de cel. Onderzoek beschreven in dit proefschrift heeft tot doel de mechanismen te ontrafelen, die betrokken zijn bij het transport van cholesterol en de moleculaire regulatie hiervan door LXR, voornamelijk op het niveau van de darm- en levercel.

Algemeen wordt verondersteld dat het positieve effect van HDL, bescherming tegen het ontstaan van atherosclerose, wordt bewerkstelligd via de rol van dit deeltje als cholesterolcarrier in het *reverse cholesterol transport* (vanuit het perifere weefsel via de lever naar de ontlasting). Het ABC transporteiwit *Abca1* is cruciaal voor de vorming van HDL. Het komt in vele weefsels tot expressie, in het bijzonder de lever, de (dunne) darm en in de macrofagen. Bij muizen die het *Abca1* gen niet tot expressie brengen (*Abca1*^{-/-}) ontbreekt het HDL. Desondanks is gevonden dat de hepatobiliaire cholesterol excretie en de uitscheiding van cholesterol via de ontlasting volledig normaal in *Abca1*^{-/-} muizen in vergelijking met controle muizen. Deze bevinding laat duidelijk zien dat *Abca1* - en dus óók HDL - niet kwantitatief belangrijk is voor het *reverse cholesterol transport*, in tegenstelling tot de heersende opvatting.

Er is altijd verondersteld dat de lever het meest belangrijke orgaan is voor de uitscheiding van cholesterol uit het lichaam. In dit proefschrift wordt beschreven dat óók de darm een bron van fecaal cholesterol moet zijn in de muis, met name na LXR activering. *Mdr2* knockout muizen zijn gebruikt om de betrokkenheid van de darm bij de fecale cholesterol excretie gedetailleerd te bestuderen. *Mdr2* transporteert fosfolipiden uit de hepatocyt naar de gal, hetgeen direct aan cholesteroluitscheiding is gekoppeld. Dus missen *Mdr2* knockout muizen niet alleen fosfolipiden maar óók cholesterol in de gal. Behandeling van *Mdr2* knockout muizen met de synthetische LXR agonist GW3965 stimuleerde de fecale sterol uitscheiding in even sterke mate als in wildtype muizen, dus onafhankelijk van de cholesterol excretie via de gal. Sterker nog, LXR activering stimuleerde ook in *Mdr2* knockout muizen de excretie van [³H]-cholesterol vanuit het plasma direct naar de

ontlasting. Deze data geven dus duidelijke indicaties dat de darm een belangrijke en nieuwe rol in het *reverse cholesterol transport* speelt.

Cholesterol verschilt alleen in de structuur van de zijketen van sterolen die in hoge concentraties in planten voorkomen, zoals sitosterol en campesterol. Plantsterolen worden ten opzichte van cholesterol in slechts zeer lage concentraties in het lichaam teruggevonden. Het is aangetoond dat de ABC half-transporters Abcg5 en Abcg8 de absorptie van sterolen uit de darm limiteren, doordat zij sterolen effectief uit de darmcel weer terug naar het darmlumen pompen. De zeldzame erfelijke ziekte *sitosterolemie* wordt door mutaties in de genen coderend voor *Abcg5* of *Abcg8* veroorzaakt. Een muismodel voor sitosterolemie, de *Abcg5* knockout muis, heeft symptomen die heel sterk lijken op die in humane patiënten, in het bijzonder verhoogde plasma plantsterol niveaus. Dat betekent dat afwezigheid van Abcg5 alleen voldoende is om het beschermende effect van het Abcg5/Abcg8 complex te verbreken. Behandeling met een synthetisch LXR agonist, T091317, resulteerde in een verhoogde expressie van, onder anderen, *Abcg5*, *Abcg8* en *AbcA1* in lever en darm van controle muizen. In *Abcg5* knockout muizen werd de *fractional cholesterol absorption* door de LXR agonist niet beïnvloed. Daarentegen verlaagde toediening van de LXR agonist wel de *fractional cholesterol absorption* in wildtype muizen. Dit houdt in dat Abcg5/Abcg8 wellicht betrokken is bij regulatie van cholesterolabsorptie.

Cholesterol homeostase in zoogdieren wordt bereikt door regulatie van endogene synthese en intestinale cholesterolabsorptie enerzijds en cholesterolkatabolisme (bijvoorbeeld omzetting naar galzouten) en excretie naar de ontlasting (via de hepatocyt of de darmcel) anderzijds. Enige van de regulerende mechanismen ervan zijn inmiddels geïdentificeerd als mogelijke targets geneesmiddelen, met als doel het plasma cholesterol te verlagen en uiteindelijk het risico op hart- en vaatziekten te verminderen. Gedetailleerde kennis van al deze processen - van het moleculaire naar het systemische niveau - is van cruciaal belang voor verdere ontwikkeling van effectieve cholesterolverlagende therapieën in de mens.