



PPAR's, op het kruispunt van obesitas, diabetes en cardiovasculair aandoeningen



Conferentie gegeven door prof. Jean-Charles Fruchart*

Keywords: ORBITA – PPARs

Jean-Charles Fruchart

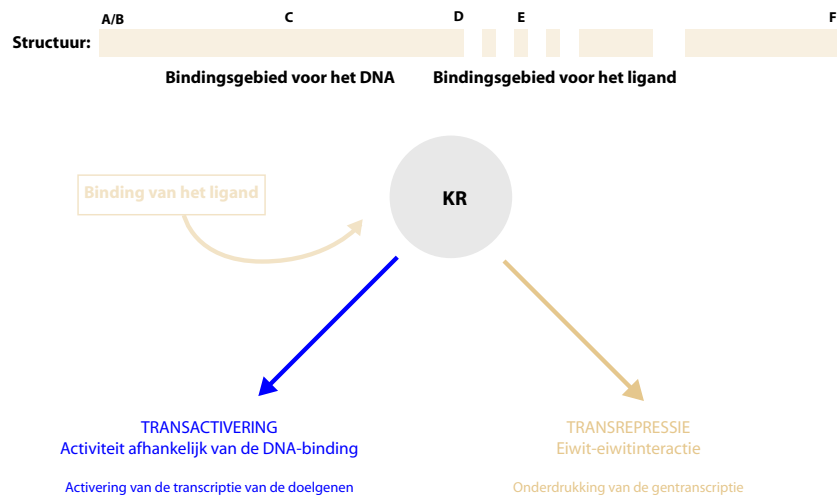


De kernreceptoren

Terwijl de epidemie van het metabool syndroom en diabetes zich verspreidt, blijven cardiovasculaire aandoeningen een van de belangrijkste doodsoorzaken in de geïndustrialiseerde landen. We hebben de aanpak van dislipidemie echter op een algemeen bekende manier zien evolueren, met als logisch gevolg een aanzienlijke daling van het risico op een cardiovasculair evenement. Maar dat risico is niet volledig bedwongen, integendeel. Het is ook duidelijk dat we in de toekomst andere doelen moeten identificeren om het overblijvende risico van atherosclerose te verminderen. De **kernreceptoren** zijn ongetwijfeld een van de meest veelbelovende zaken op dat vlak. Ze zijn betrokken bij verschillende fysiologische wegen en vormen een therapeutisch doel bij een brede waaier van aandoeningen, zoals atherosclerose en cardiovasculaire aandoeningen, omdat ze interfereren met inflammatoire aandoeningen, maar ook met diabetes, obesitas en dislipidemie. We kennen hun structuur en hun werkingsmechanisme. Het zijn proteïnen met een bindingsplaats voor een ligand en een bindingsplaats voor DNA.

Kernreceptoren werden nog maar pas ontdekt. Een categorie daarvan, de PPAR's, lijkt de weg te effenen voor gloednieuwe concepten bij de aanpak van hyperlipidemie en atherosclerose. PPAR- α wordt steeds meer bestudeerd, terwijl een nieuw type agonisten in ontwikkeling is.

Figuur 1: De kernreceptoren, structuur en werkingsmechanisme.



Twee mogelijkheden

Na binding van het ligand kunnen twee fenomenen optreden. Het eerste wordt **transactivering** genoemd en vormt een activiteit die afhankelijk is van binding aan het DNA. Daardoor wordt de transcriptie van heel wat doelgenen geactiveerd. Dit fenomeen is volledig specifiek voor de betrokken kernreceptor en voor het promotorsegment van deze genen. Een ander fenomeen, de zogenaamde **transrepressie**, werd in 1998 ontdekt en in het tijdschrift Nature beschreven. Het gaat om een eiwit-eiwitinteractie waardoor de transcriptie van heel belangrijke genen wordt onderdrukt, vooral die van de stoffen met een informerende functie die tussenkomen bij ontstekingen van de bloedvaten, NF κ B of ET-1 (Figuur 1). In de eerste fase van de **transactivering** wordt een ligand gebonden aan het

overeenstemmende bindingsgebied van de kernreceptor. Die wordt dan geactiveerd. In de volgende fase, die heel belangrijk is vanuit de invalshoek die ons interesseert, stellen we vast dat het receptor-ligandcomplex **verschillende cofactoren rekruteert**. Omdat die rekrutering varieert naargelang van het soort ligand, kan met dat mechanisme worden gespeeld om verschillende complexen met een diverse werking te genereren. In de derde fase worden doelgenen van de kernreceptoren geactiveerd. De familie van de kernreceptoren is heel uitgebreid. Ze omvat weesreceptoren, endocriene receptoren en **geadopteerde receptoren**. In

* Universiteit van Rijssel en GENFIT Corp. (Rijssel)



deze laatste categorie worden de belangrijkste kernreceptoren voor de toekomst gevonden. Ze zullen ons waarschijnlijk in staat stellen om nieuwe doelen te vinden in de behandeling van het metabool syndroom en de cardiovasculaire aandoeningen. Het gaat om de PPAR's (α , β/δ en γ), de LXR (α en β), FXR, RXR (α , β en γ) en ROR (α , β en γ) (Tabel 1). Deze kernreceptoren, vooral de PPAR's, reguleren de energiehomeostase, het lipiden- en glucosemetabolisme en ontstekingen. Issemann en Green hebben ze nog niet zo lang geleden ontdekt, in 1990. Zoals we gezien hebben, omvatten ze drie subgroepen: α , β/γ en δ . Ze vormen heterodimeren met de RXR voordat ze aan het DNA binden, op een specifiek element dat verantwoordelijk is voor de bepaling van de doelgroep van een gen.

Hoe kan het doel voor de PPAR's worden gekozen om cardiovasculaire aandoeningen en atherosclerose te behandelen? De liganden van deze metabool- en ontstekingsregulatoren zijn oplosbare lipiden. Het is tamelijk gemakkelijk om een ligand voor de PPAR's te fabriceren. We herinneren er aan dat na de binding aan de kernreceptor ver-

schillende cofactoren worden gerekruteerd. We kennen op dit moment niet minder dan veertig verschillende cofactoren. Ze zijn heel divers: geen enkele lijkt op een andere.

Na deze rekruteringsfenomenen heeft de transactivering betrekking op de genen die tussenkomen in de lipiden- en glucosehomeostase, terwijl de transrepressie tot uiting komt via anti-inflammatoire eigenschappen. Precies omdat ze via de expressie van doelgenen een hele waaier van celfuncties controleren, vormen de PPAR's interessante doelgroepen in de behandeling van atherosclerose. De PPAR's modifieren de expressie van genen die betrokken zijn bij vasculaire en systemische ontstekingen, immunoregulatie, trombose, de stabiliteit van de plaque, trombogenese, en zoals al gezegd, de lipiden- en glucosehomeostase.

Drie categorieën

De metabole werking van de PPAR's wordt vertaald in beschermende eigenschappen voor de bloedvaten (Figuur 2) en in dat opzicht lijkt PPAR α het meest veelbelovend.

De PPAR- γ -agonisten zijn goed bekend. De glitazonen zijn geneesmiddelen van dat soort. Ze vertonen bijwerkingen zoals oedeem en hartinsufficiëntie maar zijn al verkrijgbaar en hebben een onbetwistbare doeltreffendheid aangetoond bij type 2-diabetes. Hun werkingsmechanisme is gericht op de productie van cytokines en op het metabolisme van de vrije vetzuren. Op deze manier controleren ze de gevoeligheid voor insuline en de glucosehomeostase. In verschillende klinische onderzoeken kon worden aangetoond dat de PPAR- γ -agonisten bescherming van de bloedvaten induceren.

De PPAR's δ werden nog maar pas ontdekt en we weten er nog niet veel over. We kennen inderdaad hun talrijke effecten op dieren, maar niet op mensen. Het bedrijf GSK heeft onderzoek gedaan met het oog op hun gebruik bij mensen, maar heeft nog geen overtuigende resultaten behaald. We kunnen niettemin zeggen dat bij dieren de activering van de PPAR's δ , het HDL-C en het omgekeerde cholesteroltransport verhoogt. Dat werd op een heel mooie manier aangetoond bij apen. In de spieren treedt een indrukwekkend effect op van toename van de vetzuuroxidatie en afname van de insulineresistentie. We kunnen hun tot nu toe bekende eigenschappen als volgt samenvatten: toename van het HDL-C, toename van de insulinegevoeligheid en afname van het lichaamsgewicht.

De laatste categorie van de PPAR's, die van de PPAR's α , is de meest verleidelijke. Ze werd uitvoerig bestudeerd en op dit moment worden tal van PPAR- α -agonisten ontwikkeld. Ze zijn in fase I en II en zouden van groot belang kunnen zijn in de nabije toekomst.

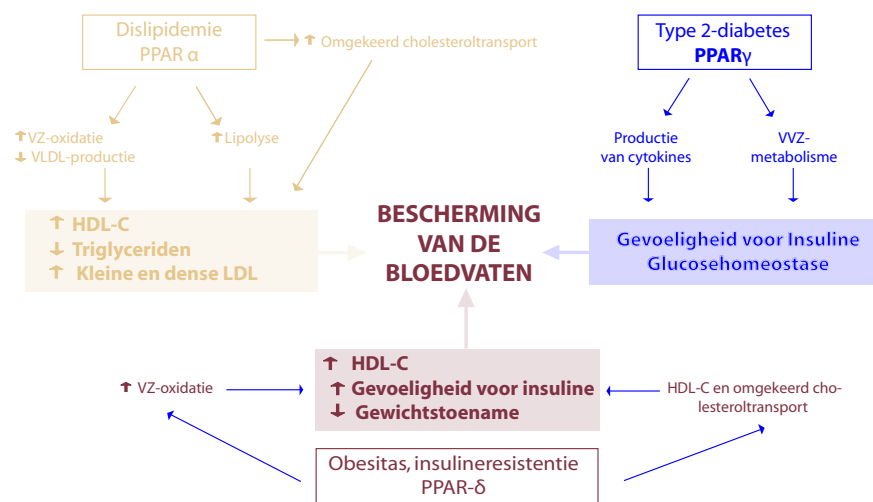
Als we de feiten meer in detail onderzoeken, zien we dat de PPAR's α op de VLDL-productie, de vetzuuroxidatie en de lipolyse inwerken. Dat alles verhoogt het HDL-C en vermindert de triglyceriden en de kleine en dense LDL. Daarin zit het gunstige effect om een ontsteking van de bloedvaten te bestrijden en de arteriën beter te beschermen. Er lopen klinische onderzoeken in die richting en andere onderzoeken hebben al heel interessante resultaten aangetoond. In de laboratoria van GENFIT-Corp. wordt onderzoek gedaan om heel selectieve PPAR- α -modulatoren te fabriceren met heel weinig of zelfs geen bijwerkingen.

Tabel 1: De PPAR's komen tussen in het metabolisme en in ontstekingen.

- Geïdentificeerd in 1990 door Issemann en Green
- Drie subgroepen: PPAR α , β/δ en γ
- Vorming van heterodimeren met RXR voorafgaand aan de binding met DNA
- Hebben oplosbare lipiden nodig die tussenkomen als liganden en als cofactoren
- Transactivering: glucose-lipidenhomeostase
- Transrepressie: anti-inflammatoire eigenschappen

Figuur 2: Beschermende eigenschappen voor de bloedvaten van de PPAR's.

De metabole werking van de PPAR's wordt vertaald in beschermende eigenschappen voor de bloedvaten.





Het belang van de PPAR's α vloeit voort uit de mogelijkheid om te interfereren met dislipidemie en vasculaire inflammatie en via deze twee aspecten invloed uit te oefenen op het atheroscleroseproces door de geschikte liganden te gebruiken. Het mechanisme is altijd hetzelfde. De binding van het ligand aan de PPAR veroorzaakt heterodimerisatie met de RXR (*retinoid X receptor*), een ander soort kernreceptor die wordt geactiveerd door het 9-cis-retinoïnezuur. Na deze heterodimerisatie worden cofactoren gerekruteerd. Het PPAR- α -RXR-complex dat zo vervolledigd is, herkent genen die in hun promotor een specifieke sequentie bevatten die *Peroxisome Proliferator Response Element* (PPRE) wordt genoemd. Dat is een sequentie van nucleïnezuren die aan een PPAR kunnen binden. De binding aan de PPAR kan vervolgens een signaal geven aan andere kerngebieden. Op de PPAR wordt een gebied gevonden met een zinkvingermotief in het DNA-bindingsgebied. Dat motief zal zich aan het responselement binden. Door te werken met de liganden van de PPAR's α kan de expressie van minstens een honderdtal genen worden gemodificeerd. Tussen de getroffen genen vinden we die van het Apo A-I en het Apo A-II, de twee belangrijkste HDL-proteïnen en de genen van het Apo A-5 en het lipoproteïnelypase die het metabolisme van de triglyceridenrijke proteïnen reguleren. SR-B1 en ABCA-1, die de twee belangrijkste regulerende proteïnen van het omgekeerde cholesteroltransport vormen, zijn er ook bij betrokken. We kunnen nog de genen CD-36, FATP en ACS vermelden, die tussenkomen in het vetzuurmetabolisme, net als de kernreceptoren zoals LXR en Rev-erb α . En dat is maar een kort overzicht.

Complexe effecten

Er kon worden aangetoond dat de PPAR's aanwezig zijn in de vaatwandcellen: endotheelcellen, macrofagen en gladde spiercellen. In deze cellen wordt, zodra de PPAR's α geactiveerd zijn, onder invloed van de onderdrukking van de transcriptie een opmerkelijk tekort in de Nf κ B en het AP-1-wegen (*Activator Protein-1* of Activatorproteïne 1), twee ontstekingsactivatoren, geproduceerd. Er werd inderdaad niet alleen een effect op deze twee stoffen aangetoond, maar ook op het TNF α , het MCP-1, het CRP, VCAM-1 en het IL-6, enz. Kortom, we worden geconfronteerd met een **belangrijk effect op de ontsteking van bloedvaten**. Dat wordt gevolgd door een

duidelijke daling van de spiegel van de inflammatiemerkers.

Laten we terugkomen op de **transactivering in het kader van de regulatie van het lipoproteïnemetabolisme**. De fibraten zijn zwakke agonisten van de PPAR's α , maar de nieuwe agonisten die zich aankondigen, zijn sterker en behoren niet tot deze klasse. Daarmee wordt de expressie van de Apo A-I en A-II verhoogd en op die manier wordt de spiegel van de HDL-partikels verhoogd. Tegelijkertijd wordt de activiteit van het lipoproteïnelypase gestimuleerd, wordt het Rev-erb α geactiveerd en daalt het Apo C-III. Dat vermindert het aandeel triglyceridenrijke partikels. In werkelijkheid is er een interactie met de lipiden die betrokken zijn bij diabetes en het metabool syndroom. Maar daarnaast kan een duidelijk effect worden bereikt op het metabolisme van de vetzuren in het plasma: op de opname in de cellen, via FAT en FATP, op de retentie in de cellen, met name via het ACS (*acyl-CoA synthetase*); op de opname in de mitochondriën, via CPT-I/II en op het mitochondriale metabolisme door de activiteit van de enzymen van de bètaoxidatie. Via al deze wegen nemen de vetzuren in het plasma en de triglyceridensynthese af.

De PPAR- α -agonisten hebben nog een ander effect op de triglyceriden. Het wordt uitgeoefend via een onlangs geïdentificeerd apoproteïne. Zowel bij mensen als bij muizen interfereert het met de triglyceridenplasmaspiegels en wordt het **Apo A-5** genoemd. Transgene muizen voor het humane Apo A-5 vertonen een sterk verminderde triglyceridenspiegel terwijl knock-outmuizen voor het apo A-5 hun TG-spiegel aanzienlijk zien stijgen. Het is fascinerend om vast te stellen dat het gen voor apo A-5 een van de belangrijkste doelgenen is voor de PPAR's α . Dat betekent bijvoorbeeld dat als een Northern Blotanalyse wordt uitgevoerd, een groeiende hoeveelheid messenger-RNA van Apo A-5 in de hepatocyten wordt aangetroffen onder invloed van de PPAR- α -agonisten die getuigen van een verhoogde genexpressie voor dit apoproteïne. In werkelijkheid is dat effect nauwelijks verrassend omdat het geïdentificeerde PPRE in de promotor een sterk bewaarde sequentie is en slechts in een nucleotide verschilt van de consensussequentie (identieke sequentie in alle superieure organismen). De PPAR- α -agonisten zijn dus heel interessante stoffen om de spiegel van de triglyceridenrijke partikels te verminderen. Zo zijn ze indirect actief op de kleine

en dense LDL. Bij diabetes en het metabool syndroom werden ook grote VLDL aangetroffen die, onder het effect van het CETP de kleine en dense LDL genereren die zelf heel atherogeen zijn. **Door gebruik te maken van PPAR-agonisten kunnen de grote VLDL-partikels in Apo C-III-arme partikels worden getransformeerd en een volledig verschillend metabolisme ondergaan. Ze evolueren naar normale LDL die door de LDL-receptor worden herkend.** Zo is het een goede zaak dat bij diabetes en het metabool syndroom, aandoeningen waarbij de kleine en dense LDL overvloedig aanwezig zijn, wordt overgegaan naar PPAR- α -agonisten. Dit verplaatst namelijk heel atherogene lipoproteïnen naar normale LDL, die relatief minder atherogeen zijn.

Een ander fascinerend aspect van de PPAR's α is hun **effect op het HDL-metabolisme**. Sinds 2001 werd achtereenvolgens de activiteit van de PPAR's α op verschillende sleutelgenen van het HDL-metabolisme aangetoond, met uitzondering van dat van het CTP (*Cholesterol Transfert Protein*). We noteren een verhoging van de Apo A-II-expressie, het lipoproteïne lipase, het ABCA-I en het SRB-I. De PPAR's α verhogen inderdaad de cholesterolflux en induceren een omgekeerd cholesteroltransport. We moeten iets heel belangrijks goed begrijpen: eigenlijk worden de HDL-partikels verhoogd. Deze zijn in staat het cholesterol dat afkomstig is van de efflux van deze stof uit de cellen, te capteren. Daarna kan het cholesterol worden herkend door de SRB-I en gekataboliseerd worden in de hepatocyten.

Zo werken de PPAR's α op verschillende niveaus: op de HDL-synthese, op de efflux en op de SR-B1.

Als bijvoorbeeld de kinetiek van de stabiele isovormen van het Apo A-I wordt beschreven, worden interessante zaken vastgesteld zoals een verhoging van de HDL-synthese. Maar daarmee gaat gepaard dat hun katabolisme wordt geaccentueerd. Het is ook heel moeilijk om de PPAR-activiteit te meten. Het HDL-cholesterol of het Apo A-I als biomerkers van deze activiteit maken het namelijk niet mogelijk om veel af te leiden, omdat een invloed op de synthese en op het katabolisme wordt vastgesteld. We kunnen nochtans bevestigen dat de PPAR- α -agonisten de dynamiek van het omgekeerde cholesteroltransport versnellen.



Transport in de macrofagen

Nog minder lang geleden werd een belangrijk aspect van het **cholesteroltransport in de macrofagen** ontdekt. Voordat ABC-I een cholesterol-efflux induceert, wordt het cholesterol door verschillende proteïnen, namelijk NPC-I en NPC-II en ook MLN64, door membranen getransporteerd. Er werd onlangs ontdekt dat de PPAR's α de genexpressie voor deze proteïnen in menselijke macrofagen induceren. Deze inductie verhoogt het cholesteroltransport door de membranen. Er kan dus een nieuwe eigenschap worden toegekend aan de PPAR- α -agonisten: de cholesteroltransfer stimuleren via de celmembranen in de macrofagen en schuimcellen. De efflux, die zelf voortvloeit uit een toename van de ABCA-I-expressie, wordt versterkt net zoals het **omgekeerde cholesteroltransport**. Je zou dus kunnen denken dat hoewel het op dit moment heel moeilijk is om via farmacologische middelen op het omgekeerde HDL-C-transport in te werken, de nieuwe agonisten die worden ontwikkeld, toch de ideale geneesmiddelen zullen blijken te zijn voor deze doelstelling.

Wat de **vaatwand** betreft, werd enkele jaren geleden bijna tegelijkertijd de aanwezigheid van PPAR α (**Figuur 3**), PPAR γ en PPAR δ zowel in de gladde spiercellen als in de endotheelcellen en de macrofagen ontdekt. Zoals al eerder werd gezegd kunnen de vasculaire inflammatie en de trombogenese worden verminderd door via de PPAR- α -activatoren te interfereren met de transcriptiefactoren van NF κ B en AP-1. Deze PPAR's oefenen verschillende functies uit op de bloedvaten en verbeteren hun functie. Ze hebben een opmerkelijk remmend effect op de rekrute-

ring en de activering van cellen door middel van MPC-1, CCR2, ICAM-1, VCAM-1 en chemokines. De cholesterol-efflux wordt gestimuleerd en er worden minder schuimcellen gevormd. Er wordt een rechtstreekse afname van de **inflammatoire respons** vastgesteld via weefselfactoren en fibrinogeen op het CRP en het IL-6. De veranderingen van sommige van die factoren verminderen ook het risico dat plaques scheuren. Kortom, er bestaan heel veel mogelijkheden om op die manier met de vaatfunctie te interfereren.

Een van de vragen die rijzen, is of met de nieuwe PPAR-agonisten, specifiek de PPAR- α -agonisten, een anti-atherosclerotische werking kan worden verkregen. Dat werd aangetoond op een endemisch model dat specifiek aan deze problematiek werd aangepast, de Apo E2 KI-muizen. KI-muizen (Knock-In) zijn muizen waarbij het gebied dat codeert voor een gen door complementair DNA van het overeenstemmende menselijke gen, wordt vervangen. Apo E2 KI-muizen zijn heel vatbaar om atherosclerose te krijgen, zelfs zonder lipidenrijk dieet. Het is heel interessant om vast te stellen dat op dit experimentele model een afname van de atheromatosevorming kan worden aangetoond met de PPAR- α -agonisten, hoewel het om zwakke agonisten gaat. Het antwoord op de vraag is dus positief: er kan een rechtstreeks effect op atherosclerose worden uitgeoefend.

Om over dit aspect tot een conclusie te komen, kunnen we dus metabole effecten vermelden, met een verhoging van de Apo A-I-, d'Apo A-II- en LPL-productie, een toename van de mitochondriale β -oxidatie, een afname van de Apo C-III-productie en een verhoging van de Apo A-5-productie.

Algemeen zien we een vasculaire werking, door het anti-inflammatoire effect, stimulatie van de cholesterol-extractie uit de macrofagen en een anti-trombogene werking. Er kan worden gedacht dat met de PPAR's α een goed doel is gevonden om atherosclerose te bestrijden.

De toekomstige generatie

We kunnen zelfs de volgende generatie van de liganden van de PPAR's α bekijken, die van de selectieve modulators, de **Selective PPAR Modulators** (SPPARM's).

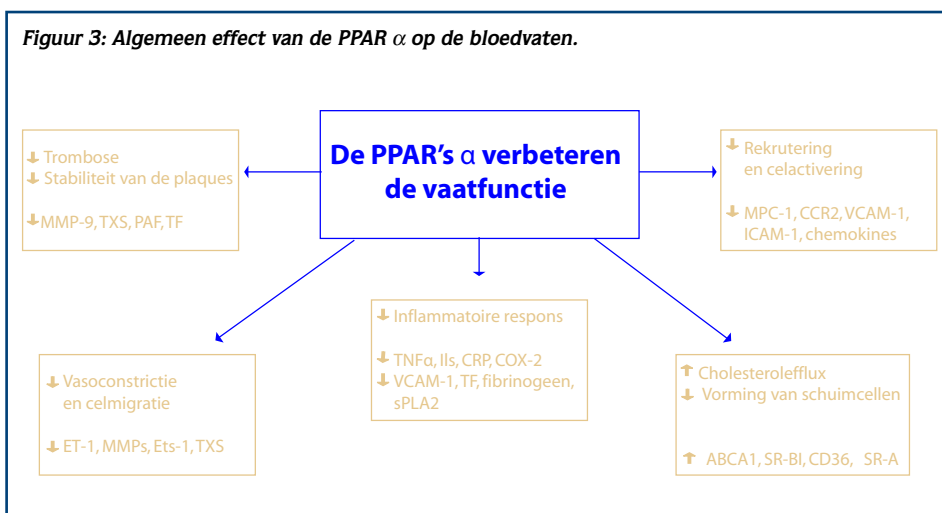
Welke argumenten kunnen we aanhalen ten voordele van hun ontwikkeling? Deze vraag doet een beroep op het onderzoek dat werd ontwikkeld door GENFIT, de spin-off die de universiteit van Rijsel mee op touw heeft helpen zetten. Dat bedrijf heeft het concept **SNuRM** (*Selective Nuclear Receptor Modulators*) ontwikkeld. Bepaalde onderzoeken hebben ons geleerd dat als een ligand zich aan een kernreceptor van het type PPAR bindt, het mogelijk is om de transactivering zo te gebruiken dat alleen de genen van gewenste stoffen worden geactiveerd en de transrepressie kan worden gebruikt om alleen de genen van de niet-gewenste elementen te onderdrukken.

Dat heeft geholpen op andere domeinen van het lipidenmetabolisme. Het werd toegepast op de PPAR's om tegelijkertijd de doeltreffendheid en veiligheid van de geneesmiddelen te verhogen.

De basis van dit concept berust op de **affiniteit van de cofactoren**. Er kon worden aangetoond dat de binding van de verschillende liganden aan verschillende receptoren andere wijzigingen in de conformatie induceert. Bijgevolg varieert de affiniteit voor de cofactoren en heeft elke ligand zijn eigen affiniteitsmodel voor deze cofactoren. En deze verschillen in de rekrutering van cofactoren leiden tot de modulering van verschillende fysiologische wegen en tot verschillende selectieve effecten op de weefsels en de doelgenen. De conclusie van alle uitgevoerde onderzoeken op deze vragen is dat de effecten van de liganden in overeenstemming zijn met hun rekruteringsprofiel van de cofactoren.

Om het concept SNuRM toe te passen, kunnen we ons een ligand I en een ligand II voorstellen die dezelfde cofactoren en bijgevolg dezelfde effecten

Figuur 3: Algemeen effect van de PPAR α op de bloedvaten.





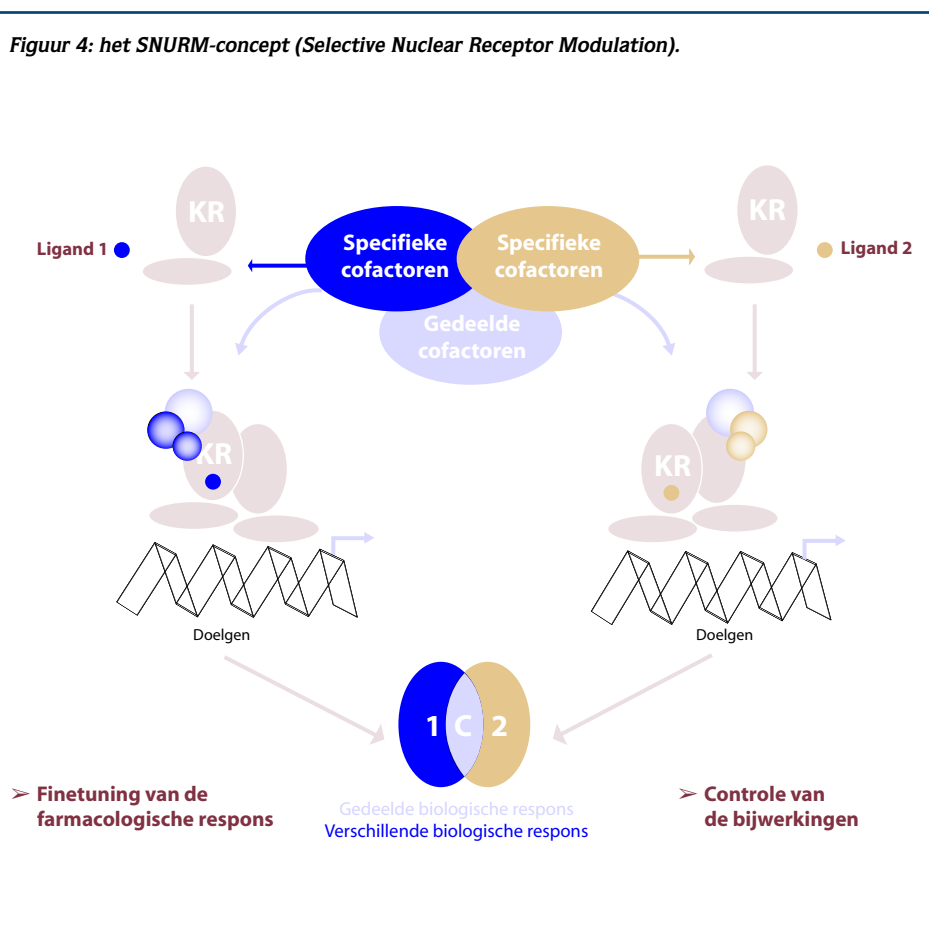
delen, maar via verschillende wegen, met name die van de transactivering en die van de transrepressie. Bovendien kunnen naast deze gemeenschappelijke aspecten ook gedeeltelijk verschillende rekruteringsprofielen bestaan, die een beroep doen op niet-gedeelde cofactoren. Zo ontstaan verschillende bijwerkingen. De biologische respons heeft dus gemeenschappelijke componenten, maar kan tegelijkertijd naast de gedeelde effecten verschillende aspecten voor een van de beide bekeken liganden vertonen (**Figuur 4**). Ons onderzoek bestond er dus uit om liganden te selecteren waarmee tegelijkertijd de bijwerkingen en de gewenste effecten worden beheerst. Een goed voorbeeld daarvan is het concept SPPARM's, dat ontsproten is uit een vergelijkende studie van twee goed bekende stoffen: fenofibraat en gemfibrozil. Deze twee stoffen delen bepaalde fysiologische activiteiten: afname van de kleine en dense LDL, verhoging van het HDL en afname van de triglyceriden. Maar het fenofibraat vermindert ook het LDL en het fibrinogeen en verhoogt het Apo A-I, terwijl gemfibrozil deze effecten niet heeft. Dat bewijst dat zelfs verschillende fibraten verschillende effecten hebben. Door de rekruteringsprofielen van de cofactoren van deze twee stoffen te onderzoeken werd vastgesteld dat ze twee verschillende rekruteringsprofielen hebben.

Na de bepaling van deze argumenten moet nog een strategie worden vastgelegd waarmee de SPPARM's kunnen worden geïdentificeerd en ontwikkeld. De gekozen weg is lang en bestond uit de synthetisering van een grote hoeveelheid ligand. Vervolgens moest hun bindingsvermogen met de PPAR's worden onderzocht via de techniek van controlegenen en moesten hun eigenschappen om cofactoren te rekruteren worden bestudeerd zodat we een echte identiteitskaart van elk van hen hadden. Daarna werd het transactiveringsprofiel van de genen in de verschillende weefsels en doelcellen opgehelderd via de micro-arraysmethode. Ten slotte was het de beurt aan de bijwerkingen, de effecten op het glucose- en lipidenmetabolisme, de anti-inflammatoire werking en de vasculaire effecten van elk bestanddeel om grondig te worden onderzocht. Op basis van al die gegevens en door middel van de informatica konden vergelijkingen worden gemaakt.

Beschrijving van het farmacologische profiel

Zo kon het farmacologische profiel *in vitro* van de SPPARM's worden beschreven. Dat profiel

Figuur 4: het SNURM-concept (Selective Nuclear Receptor Modulation).



kon worden bepaald dankzij vier celmodellen die werden gebruikt om de metabole effecten van deze nieuwe stoffen uitvoerig te beschrijven: de adipocyten, de spiercellen, de hepatocyten en de bètacellen. De betrokken functie en genen van deze cellijn werden aan elk van de gesynthetiseerde componenten blootgesteld. Bovendien konden door gebruik te maken van endotheelcellen en macrofagen de vasculaire effecten en de anti-inflammatoire werking worden onderzocht, nogmaals door de relevante functies en genen te bestuderen. Ze moeten nog *in vivo* worden bestudeerd op endemische modellen van diabetes, insulineresistentie en obesitas, waarbij ook het bloed moet worden onderzocht. Dat moest ook worden gedaan voor dislipidemie: dat gebeurde eens te meer door de weefsels en het bloedprofiel te bestuderen. De inflammatie werd op vergelijkbare manier bestudeerd in de aorta, de lever, het hart en het bloed met histologische technieken en moleculaire biologie (*micro-arrays*). Dankzij de bio-informatica konden al deze gegevens onderling worden vergeleken en geanalyseerd om uiteindelijk het optimale profiel voor rekrutering van de cofactoren te identificeren. Dat proces

vormt een echte splitsing van de PPAR's en hun effect op atherosclerose en op inflammatie. Op deze basis werden verbindingen gegenereerd die voorzien waren van de onderzochte effecten en gekenmerkt werden door zo weinig mogelijk bijwerkingen. Het lijkt erop dat dit alles tot succes zal leiden, want een verbinding bevindt zich op het einde van fase II en een andere start met fase I.

Het gaat hier natuurlijk om teamwerk waarbij verschillende universitaire laboratoria zijn betrokken, evenals de onderzoekers van GENFIT, namelijk meer dan een honderdtal wetenschappers. Dankzij dat teamwerk kunnen we hopen dat we op een dag nieuwe geneesmiddelen ter beschikking kunnen stellen aan het medische korps en dat deze het overblijvende cardiovasculaire risico, dat ondanks het gebruik van statines nog bestaat, kunnen verminderen.