

# Arterial Function and Structure in Experimental Hypertension

## Citation for published version (APA):

Lemkens, P. (2018). *Arterial Function and Structure in Experimental Hypertension: Effects of NEP/ECE Inhibition*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20181128pl>

## Document status and date:

Published: 01/01/2018

## DOI:

[10.26481/dis.20181128pl](https://doi.org/10.26481/dis.20181128pl)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

# **Chapter 9**

## **Summary**

## Chapter 9

Endothelial dysfunction and arterial remodeling contribute to the pathophysiology of hypertension. It is unclear whether hypertension affects the ability to respond to imposed changes in shear stress and circumferential wall stress.

Endothelin-1 (ET1) is a potent vasoconstrictor, a potent growth promoting and pro-inflammatory agent. These functions make the endothelin system a prone target in reversing arterial remodeling, preventing endothelial dysfunction and treatment of hypertension.

In **Chapter 2** we evaluated the effects of altered blood flow on the mRNA and protein expression in 6 week old WKY and 6 week old SHR. We observed a rapid and concurrent downregulation of eNOS, sGC and PKG mRNA and upregulation of TSP1 mRNA expressions at the initiation of flow-related remodeling. The results for mRNA as well as protein were however largely similar in both strains suggesting that the pathways investigated are not likely involved in the inward remodeling of resistance arteries that contributes to the elevated total peripheral vascular resistance and blood pressure in SHR. Furthermore we reported the ability of the calreticulin/LRP1 binding sequence (hep1) of TSP1 to promote a de-adhesive state and reverse the inward remodeling of mesenteric resistance arteries observed in 12 week old SHR.

In **Chapter 3** we give an overview of the peculiar interaction of ET1 with the ET<sub>A</sub> receptor. We elaborated on why current treatments targeting ET1/ET-receptor interacting have been less successful than anticipated.

In **Chapter 6** we reported that chronic NEP/ECE inhibition with SOL1 has no effects on blood pressure nor on structure of mesenteric resistance arteries from young (12 week old) SHR. Dysfunction is most apparent in the upregulation of the EDCF (endothelium-derived contractile factor) response and an impairment of the EDHF (endothelium-derived hyperpolarizing factor) response. Despite the lack of structural effects in these animals, chronic SOL1 administration does improve endothelial function and may thus be a valuable (supplementary) treatment option for this pathology.

Similar results as regards to EDCF and EDHF as well as structure were obtained in 32 week old SHR (**Chapter 7**), although the improvement of EDHF was only observed after a pretreatment with the non-selective ET<sub>A/B</sub> antagonist bosentan. Chronic treatment with the angiotensin II antagonist losartan or the vasodilator hydralazine did not result in an improvement of endothelial function. Contrary to the lack of effect of SOL1 on arterial structure and blood pressure, chronic losartan administration succeeded in significantly reducing blood pressure and decreasing wall to lumen ratios. A combination of an angiotensin II receptor antagonist, or alternatively an ACE inhibitor, and a dual NEP/ECE inhibitor could be an interesting option to look in to.

In **Chapter 4** we confirmed that SOL1 is able to reduce ET1 peptide levels in mesenteric resistance arteries. Subsequently we established potassium induced activation of vascular

smooth muscle as a stimulus for endothelin-1 production and release in DOCA-salt HT, but not NT rats. In line with this observation, ET1 potentiated contractile responses during potassium induced activation of vascular smooth muscle in mesenteric resistance arteries of DOCA-salt HT rats. A similar effect was not observed in NT. The endothelin-1 effects could be completely inhibited by mechanical removal of the endothelium and by the non selective ET-receptor antagonist bosentan, and partly by inhibiting the synthesis pathways with the dual NEP/ECE inhibitors phosphoramidon and SOL1. These observations suggest that a pronounced feedback mechanism exists stimulating endothelin-1 release from the endothelium after potassium induced activation of vascular smooth muscle specifically in DOCA-salt HT rats.

Structural properties and the effect of SOL1 administration were described in **Chapter 5**.

We showed that mesenteric resistance arteries of DOCA salt HT rats show transient infiltration of monocyte/macrophages, hypertrophy, increased arterial stiffness, impaired outward remodeling in response to an increase in flow and inward remodeling as a response to decreased flow. While the can be by chronic NEP/ECE inhibitor treatment (partly) reversed hypertrophy and improved the impaired outward remodeling. Arterial stiffness was not affected by the chronic SOL1 administration. Furthermore we observed that mesenteric resistance arteries exposed to low flow conditions also showed transient infiltration of monocyte/macrophages which was more pronounced in DOCA-salt hypertensive arteries. After 6 weeks of DOCA-salt hypertension, vasa vasorum-like structures formed in the adventitial layer proximal to the suture. The region and severity of the inflammation was greatly reduced by chronic SOL1 administration.

**Chapter 8** provides a general discussion of this dissertation.



# **Chapter 10**

## **Samenvatting**

Endotheel disfunctie en arteriële remodelering dragen bij tot de pathofysiologie van hypertensie. Het is niet duidelijk als hypertensie de mogelijkheid van bloedvaten om te reageren op opgelegde veranderingen in schuifspanning en wandspanning, beïnvloed.

Endotheline-1 (ET1) is een krachtige vaatvernauwend, celgroei stimulerend en een ontstekings-inducerend eiwit. Deze eigenschappen maken van het endotheline systeem een uitstekend aangrijppunt voor het omkeren van arteriële remodelering, het voorkomen van endotheel-disfunctie en de behandeling van hypertensie.

In **Hoofdstuk 2** evalueren we de effecten van gewijzigd bloedstroomdebiet op de mRNA en eiwit expressie in 6 weken oude WKY en SHR. We zagen een snelle en gelijktijdige “neerwaartse regulering” van eNOS, sGC en PKG mRNA en een “opwaartse regulatie” van TSP1 mRNA expressie bij het initiëren van stroom-gerelateerde remodelering. De resultaten wat betreft mRNA en eiwit waren gelijkaardig wat suggereert dat de onderzochte mechanisme waarschijnlijk niet betrokken zijn bij het proces van inwaarts remodeleren van weerstandsvaten, wat bijdraagt tot de totale verhoogde perifere vasculaire weerstand en bloeddruk kenmerkend voor de SHR. Voorts zagen we dat de calreticulin/LRP1 bindings sequentie (hep1) van TSP1 de de-adhesieve staat en de omgekeerde remodelering van mesenterische weerstandsvaten van 12 weken oude SHR bevorderde.

**Hoofdstuk 3** biedt een overzicht van de opmerkelijke interacties van ET1 met de ETA receptor. We gaan in op mogelijke redenen waarom de huidige behandelingen die zich richten op de ET1/ET-receptor interacties minder succesvol zijn dan verwacht.

In **Hoofdstuk 6** wordt beschreven dat chronische inhibitie van NEP/ECE met SOL1 geen effecten had op bloeddruk of de structuur van mesenterische weerstandsvaten van jonge (12 weken oude) SHR. De Dysfunctie in deze dieren uit zich het meest prominent als een opregulatie van de EDCF en een verzwakking van de EDHF respons. Ondanks het gebrek aan structuur effecten in deze dieren verbetert het chronisch toedienen van SOL1 de endotheel functie en zou dus een waardevolle (additionele) behandelingsmogelijkheid zijn voor deze pathologie.

Gelijkaardige resultaten wat betreft zowel EDVF en EDHF als vaatstructuur werden waargenomen in 32 weken oude SHR (**Hoofdstuk 7**), hoewel dat de verbetering van EDHF enkel werd waargenomen na voorbehandeling met de niet-selectieve ETA/B receptor antagonist bosentan. Chronische behandeling met de angiotensine II antagonist losartan of de vaatverwijderaar hydralazine resulteerden niet in een verbetering van endotheel functie. In tegenstelling tot het gebrek aan effect van SOL1 op arteriële structuur en bloeddruk was chronische losartan behandeling wel succesvol in het verlagen van de bloeddruk en de wand vs lumen ratio. Een combinatie van een angiotensin II receptor antagonsit, of een ACE inhibitor en een NEP/ECE inhibitor zou een interessant agens kunnen zijn om in deze optiek te bekijken.

In **Hoofdstuk 4** bevestigden we dat SOL1 in staat is om de ET peptide niveaus in mesenterische weerstandsvaten te verminderen. Vervolgens toonden we aan dat Kalium geïnduceerde activatie van vasculaire gladde spier een stimulant is voor ET1 productie en vrijzetting in DOCA zout hypertensieve maar niet in normotensieve ratten. Volgend op deze observatie konden we vaststellen dat ET1 de contractische responses door Kalium geïnduceerde activatie van vasculaire gladde spier versterkte in DOCA zout hypertensieve ratten. Een gelijkaardig effect werd niet waargenomen in normotensieve ratten. De ET1 effecten konden volledig geïnhibeerd worden door de mechanische verwijdering van het endotheel en door de niet selectieve ET-receptor antagonist bosentan, en ook deels door het inhiberen van de synthese route met de dubbele NEP/ECE inhibitoren fosforamidon en SOL1. Deze observaties suggereren dat er een uitgesproken terugkoppelingsmechanisme bestaat dat ET vrijzetting stimuleert uit het endotheel na Kalium geïnduceerde activatie van vasculaire gladde spier specifiek in DOCA zout hypertensieve ratten.

Structurele eigenschappen en het effect van SOL1 administratie werden beschreven in **Hoofdstuk 5**.

We toonden aan dat mesenterische weerstandsvaten van DOCA zout hypertensieve ratten een transiente infiltratie van monocyte/macrofagen, verhoogde arteriele stijfheid, en vermindering van de uitwaartse remodelering als antwoord op een verhoogde stroom en inwaartse remodelering als antwoord op een verlaagde stroom vertonen. Arteriele stijfheid werd niet beïnvloed door chronische SOL1 behandeling. Voorts konden we vaststellen dat mesenterische weerstandsvaten, blootgesteld aan verlaagde bloedstroom, een transiente infiltratie van monocyte/macrofagen vertoont die meer uitgesproken was in arterien van DOCA zout hypertensieve dieren. Na 6 weken DOCA zout hypertensie vormden zich vasa-vasorum structuren in de adventitia laag dicht bij de hechting. De betrokken regio en de ernst van de inflammatie werden sterk verminderd door chronische SOL1 toediening.

**Hoofdstuk 8** voorziet een algemene discussie van dit proefschrift.