

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/32582> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Wijngaarden, Marjolein A.

Title: Metabolic and endocrine adaptations to fasting in lean and obese individuals

Issue Date: 2015-03-26

Chapter 8

Nederlandse Samenvatting

Vasten

Vasten heeft een enorm effect op het metabolisme. De spiegels van insuline en ook glucose dalen flink tijdens slechts een paar dagen vasten. Normaal gesproken komt energie vooral beschikbaar uit de verbranding van koolhydraten. Tijdens vasten verandert dit en is het juist de vetverbranding die zorgt voor de beschikbare energie. De wisseling van koolhydraat naar vetverbranding is echter niet onmiddellijk slecht voor de hersenen ook al zijn deze gewoon vooral glucose gebruiken als energie. Bij vetverbranding ontstaan namelijk ketonzuren welke ook door de hersenen gebruikt kunnen worden om energie te krijgen. Glucose wordt in de lever opgeslagen als glycogeen om tussen de maaltijden door de glucosespiegel in het bloed op peil te kunnen houden. Na 2 tot 3 dagen vasten zijn deze voorraden echter op. Dan wordt glucose gemaakt in de nieren en ook in de lever uit lactaat, pyruvaat, glycerol en uit bepaalde aminozuren zoals alanine (gluconeogese). Tijdens het vasten worden verschillende hormonale regelkringen (schildklier, reproductieve hormonen) platgelegd wat waarschijnlijk de voortplanting voorkomt in tijden van voedselschaarste. Op een meer moleculair niveau ondergaan (eiwit)-signaaltransductieroutes tijdens vasten een aanpassing. Vooral in het adenosine monophosphate-activated kinase (AMP-activated kinase, AMPK) waren wij geïnteresseerd en wilden wij de rol tijdens vasten bestuderen. Dit enzym wordt tijdens energietekort in de cel geactiveerd. De activiteit van dit enzym is er via allerlei cellulaire routes op gericht de energie balans weer te herstellen. Het is ook belangrijk voor de wisseling naar vetverbranding.

Overgewicht en obesitas

Overgewicht en obesitas worden gedefinieerd aan de hand van de body mass index (gewicht / lengte (m) in het kwadraat). Overgewicht wordt gedefinieerd als een BMI tussen 25 en 30 kg/m²; obesitas als een BMI $\geq$ 30 kg/m². In 2008 waren er wereldwijd 1.5 miljard mensen met overgewicht en 500 miljoen mensen met obesitas. Helaas neemt de prevalentie van overgewicht en obesitas steeds verder toe zonder dat er, afgezien van bariatrische chirurgie, een langdurig effectieve behandeling bestaat. Politieke erkenning van dit veelvoorkomende probleem is nog niet optimaal. Wellicht dat een beter begrip van de ziekte kan leiden tot een verbetering hiervan. Obesitas heeft een ongunstig effect op de gezondheid; het is een risicofactor voor hart- en vaatziekten, diabetes, spieraandoeningen en bepaalde vormen van kanker

(bijvoorbeeld borst en darmkanker). Aangezien AMPK zo belangrijk is tijdens verstoringen van de energiebalans, werd in dit proefschrift de rol van AMPK in overgewicht/obesitas onderzocht. De activiteit van AMPK kan het beste in cellen worden bestudeerd, hiervoor kan bijvoorbeeld spierweefsel worden gebruikt. Tot dusver zijn er niet veel veranderingen in de activiteit van AMPK gevonden in patiënten met obesitas of “ouderdoms”suikerziekte (type 2 diabetes mellitus).

Ook de hersenen zijn erg belangrijk voor het handhaven van de energiebalans. Dierstudies toonden aan dat met name de hypothalamus, een hersenstructuur die ook veel hormonale assen (schildklier, voortplanting) aanstuurt, een essentieel hersengebied is dat de voedselinname kan reguleren. De hypothalamus krijgt informatie over de voedingsstatus via de bloedbaan. In reactie op deze informatie kan de hypothalamus hormonen en ook neurotransmitters aanmaken of de hoeveelheid van deze hormonen aanpassen om een verstoring in de energiebalans te kunnen herstellen.

Gebruikte technieken

In dit proefschrift zijn meerdere technieken gebruikt in de verschillende onderzoeken. Er is bijvoorbeeld gebruikt gemaakt van functionele magnetische resonantie beeldvorming (fMRI; functional magnetic resonance imaging). Door het aanleggen van een magnetisch veld door een MRI scanner en het gebruik van radiogolven kunnen waterstofkernen geactiveerd worden. Deze activatie kan vervolgens omgezet worden tot beelden. fMRI maakt gebruik van een toegenomen signaal in de hersenen bij toegenomen activiteit in een bepaald hersengebied. Dit signaal is afhankelijk van de oxygenatie (zuurstofgehalte) van het bloed dat toeneemt bij toegenomen hersenactiviteit. Deze techniek werd in ons onderzoek gebruikt om de hersenactiviteit van de hypothalamus en andere hersengebieden te bestuderen.

Daarnaast is gebruik gemaakt van de zogenaamde hart ritme variabiliteit (HRV; heart rate variability). HRV kan gebruikt worden om een schatting te maken van de activiteit van verschillende onderdelen van het zenuwstelsel.

De activiteit van AMPK werd gemeten in spierweefsel van de proefpersonen dat werd afgenomen door middel van een spierbiopsie (onder lokale verdoving). Verder vonden er bloedafnames plaats om onder andere hormoonspiegels te bepalen.

Doel van dit proefschrift

Het overkoepelende doel van dit proefschrift was om te onderzoeken welke aanpassingen het lichaam doet in reactie op vasten gedurende langere tijd en hoe deze aanpassingen verschillen tussen proefpersonen met en zonder obesitas. Verschillende parameters werden bestudeerd. Eerdere studies lieten al zien welke effecten vasten heeft op bloedspiegels van hormonen en op de mate van koolhydraat versus vetverbranding. Onze interesse lag vooral bij de moleculaire veranderingen in het skeletspierweefsel, de veranderingen in hersenactiviteit en de aanpassingen van het zenuwstelsel. Ten eerste werd gehoopt bij te dragen tot een beter begrip van de aanpassingen die het lichaam maakt in reactie op vasten. Ten tweede werd gehoopt eventuele verschillen in deze aanpassingen aan te kunnen tonen tussen proefpersonen met of zonder obesitas om uiteindelijk nieuwe behandelvormen te kunnen vinden voor de behandeling van obesitas. Dit alles werd bestudeerd in verschillende onderzoeken waarvan de resultaten in onderstaande hoofdstukken worden beschreven.

Indeling proefschrift

In **Hoofdstuk 2** was de hypothese dat vrijwilligers met en zonder overgewicht verschillend zouden reageren op 48 uur vasten. We hebben de effecten van het vasten vergeleken tussen de groepen op de volgende parameters: fMRI ('hersenactiviteit'), HRV ('zenuwstelsel'), hormonen, verbranding van vet of koolhydraat en moleculaire parameters in de skeletspier. Onze hypothese was dat AMPK geactiveerd zou raken na 48 uur vasten en dat deze activatie in mindere mate aanwezig zou zijn in de proefpersonen met obesitas.

Echter, wij toonden aan dat de activiteit van AMPK juist licht afnam na 48 uur vasten, maar alleen in de slanke individuen. Toch zou het kunnen dat vasten leidt tot een activatie van AMPK, maar dan wellicht op een veel eerder tijdstip dan pas na 48 uur. Het was helaas niet mogelijk om dit in dit proefschrift verder te onderzoeken.

Verder laten we in deze studie zien, dat de reactie van verschillende hormoonspiegels (insuline, leptine, groeihormoon) en ook de wisseling van koolhydraat naar vetverbranding minder flexibel verloopt in de proefpersonen met overgewicht. Deze bevindingen bevestigen eerder onderzoek van andere onderzoeksgroepen. Verder toonden we aan dat de genetische expressie (het genetisch tot uiting komen) van

zogenaamde 'mitochondrial respiratory-chain protein subunits' significant lager was in individuen met obesitas. Dit is een nieuwe bevinding waarvan de relevantie verduidelijkt moet worden door toekomstige onderzoek.

Hoofdstuk 3 toont de effecten die we vonden met betrekking tot de grootte van variatie van het hartritme (HRV) tussen personen met en zonder obesitas; na een maaltijd en na 48 uur vasten. HRV wordt grotendeels bepaald door het autonome zenuwstelsel. Eerdere studies toonden aan dat deze HRV verlaagd is in personen met obesitas, met name door een toegenomen activiteit van het sympathisch zenuwstelsel (SZS). In een eerdere studie werd aangetoond dat vasten de activiteit van het SZS doet toenemen.

In tegenstelling tot onze verwachting, vonden we in onze studie geen verschil op baseline tussen de slanke personen en de personen met obesitas. Het zou kunnen dat dit een direct gevolg is van onze studieopzet; onze HRV metingen werden steeds ná een maaltijd verricht. Dit kan onze resultaten hebben kunnen beïnvloed omdat een maaltijd zelf al de bijdrage van het SZS aan het zenuwstelsel zou kunnen vergroten.

In deze studie tonen we aan dat vasten zowel de vagale tonus (nervus vagus; parasympathisch zenuwstelsel dat actief is in rusttoestand) als de SZS (sympathisch zenuwstelsel dat actief is tijdens activiteit) tonus doet afnemen in slanke proefpersonen. In de proefpersonen met obesitas werd een kleinere afname in de vagale tonus gezien en nam de SZS tonus juist toe. Echter, toetsing van het verschil in de reactie tussen personen met en zonder obesitas was niet significant. Verder tonen we in deze studie aan dat 8 weken leven op een laag calorisch dieet – leidend tot een gemiddelde afname van het gewicht met 13kg in de groep proefpersonen met overgewicht – leidt tot een toename van de bijdrage van het SZS aan het zenuwstelsel (wederom na een maaltijd gemeten).

Samenvattend laten we in deze studie zien dat 48 uur vasten de vagale en SZS tonus doet afnemen in slanke proefpersonen en dat de SZS tonus toenam in obese proefpersonen. Na een laag calorisch dieet nam de SZS bijdrage toe waardoor deze een reactie vertoonden die meer lijkt op die van slanke proefpersonen. De slanke proefpersonen lieten na een maaltijd namelijk ook een relatief hogere SZS bijdrage zien dan de obese proefpersonen. Het zou dus kunnen zijn dat de verschillen die er bestaan tussen slanke en obese proefpersonen minder worden nadat obese proefpersonen zijn afgevallen.

Hoofdstuk 4 beschrijft de effecten van vasten in slanke en obese proefpersonen op connectiviteits-netwerken in de hersenen, gemeten middels fMRI. In deze studie bekeken we de effecten van vasten in 12 slanke proefpersonen en 12 proefpersonen met overgewicht. We maakten MRI scans 's ochtends, nuchter, en na 48 uur vasten. We gebruikten zogenaamde 'functional connectivity' (FC) analyses om onze resultaten te bestuderen. FC wordt gebruikt om de interactie tussen verschillende hersengebieden in kaart te brengen. Deze FC kan zowel positief als negatief zijn; positief houdt een gelijke beweging in (toename of juist afname van activiteit) tussen de hersengebieden. Negatief houdt een tegengestelde beweging in. In dit onderzoek keken we naar FC met geselecteerde hersenregio's; de hypothalamus, de amygdala en het veel bestudeerde zogenaamde default-mode network (uitgaande van de posterieure cingulate cortex, PCC) om te kijken welke verschillen er zijn tussen slanke en obese proefpersonen.

Ons belangrijkste resultaat was dat de FC van de hypothalamus met bepaalde andere hersengebieden (linker insula, dorsal anterieure cingulated cortex) verschillend reageerde op het vasten tussen de proefpersonen met en zonder overgewicht. Er werd een grotere afname gezien van de FC tussen de hypothalamus en de linker insula in de slanke proefpersonen, wat met name veroorzaakt werd door een hogere connectiviteit tussen deze gebieden in de proefpersonen met overgewicht op baseline. Verder zagen we dat de FC tussen de hypothalamus en de dACC veranderde van negatief naar positief in de slank proefpersonen en van positief naar negatief veranderde in de proefpersonen met overgewicht. Onze resultaten suggereren dus dat er verschillen bestaan in de FC tussen slanke proefpersonen en die met overgewicht. Meer studies zijn noodzakelijk om dit verder aan te tonen.

Hoofdstuk 5 beschrijft de effecten van 24 uur vasten in gezonde jonge mannen op drie verschillende tijdstippen. We hebben in deze studie gekeken naar andere tijdstippen ten opzichte van **hoofdstuk 2**. We bestudeerden de effecten op hormonen, op koolhydraat versus vetverbranding, en op moleculaire parameters in skeletspierweefsel. In deze studie werden meer bipten – en op andere tijdstippen – afgenomen dan in hoofdstuk 2. We toonden aan dat de bekende wisseling van koolhydraat naar vetverbranding en de daling van het insuline tegelijk optrad met een afgenomen activiteit van PKB/Akt en mTOR signaaltransductieroutes in de skeletspier. We hadden verwacht dat AMPK, als belangrijke energie sensor, geactiveerd zou raken tijdens het vasten. In deze studie was AMPK echter totaal niet aangedaan door het vasten. We

weten wederom niet zeker of AMPK niet geactiveerd was op een eerder tijdstip; dat wil zeggen korter na de maaltijd die gegeven werd voordat het vasten begon. Toekomstige studies zijn derhalve nodig om te bestuderen of en zo ja wanneer AMPK geactiveerd raakt tijdens vasten.

Daarnaast laten we in deze studie de resultaten zien van een zogenaamde transcriptoom analyse. Hierin werd gekeken naar genen die geactiveerd werden in reactie op het vasten. Ook deze resultaten moeten in toekomstige studies bevestigd worden en de relevantie van deze veranderingen moet eveneens nog bestudeerd worden; misschien kan dat het beste in diermodellen.

In **Hoofdstuk 6** laten we de resultaten zien van een studie waarin onderzoek bij fruitvliegjes werd geëxtrapoleerd naar mensen. Fruitvliegjes leven langer als ze weinig te eten krijgen. In fruitvliegjes was aangetoond dat de aanwezigheid van geuren van voedsel (in vergelijking tot de afwezigheid hiervan) de levensverlenging die ontstaat door vasten teniet kan doen. Wij keken naar de effecten van deze geuren tijdens vasten op hormoonspiegels en het fMRI signaal van de hypothalamus. Onze hypothese was dat de aanwezigheid van geuren (en zichtbaar voedsel) tijdens vasten de effecten die vasten heeft op hormonen en de neuronale activiteit in de hypothalamus (geschat middels fMRI) teniet zou doen. Om dit te onderzoeken lieten we 12 jonge mannen tweemaal gedurende 60 uur vasten; éénmaal in de aanwezigheid, éénmaal in de afwezigheid van geuren en visuele voedsel prikkels. We vonden geen verschil tussen deze condities.

Conclusie en plannen voor de toekomst

In dit proefschrift beschrijven we de resultaten van verschillende onderzoeken die er op gericht waren de hormonale, metabole, moleculaire en neuronale effecten in zowel slanke als overgewichtige proefpersonen te bestuderen.

Zoals verwacht, tonen we opnieuw de bekende effecten van vasten aan; de stofwisseling wisselt van glucose naar vetverbranding. We tonen aan dat deze wisseling gepaard ging met een afname van bepaalde hormonen (met name insuline) en dat in de skeletspier bepaalde signaaltransductieroutes (PKB/Akt en mTOR) gelijktijdig omlaag werden bijgesteld.

Wat de signaaltransductieroutes betreft, bekeken in biopten van de skeletspier, waren we met name geïnteresseerd in AMPK – een belangrijk enzym dat geactiveerd raakt

tijdens energiegebrek. Echter, in de meeste van onze studies lijkt dit geen belangrijke rol te spelen tijdens het vasten. We kunnen alleen niet uitsluiten dat we een eventueel effect gemist hebben door op niet de juiste tijdstippen bipten te hebben afgenomen. Zoals verwacht, zijn de metabole en hormonale reactie in de proefpersonen met overgewicht enigszins verstoord geraakt. Een nieuwe bevinding in onze onderzoeken was dat de hoeveelheid eiwit afkomstig van mitochondriën, celorgaanjes die betrokken zijn bij het metabolisme, significant lager was in de skeletspieren van de proefpersonen met overgewicht.

Wat betreft de neuronale respons op vasten vonden we enkele verschillen tussen de proefpersonen met en zonder overgewicht. Meer studies zijn nodig om aan te tonen of deze effecten inderdaad betrokken zijn bij eventuele veranderingen in de verzadigings-/beloningsmechanismen van de hersenen.

Onze resultaten suggereren dat vasten het zenuwstelsel verschillend beïnvloedt tussen de verschillende groepen proefpersonen (slank versus obees), alleen dit haalde net geen significantie – meer onderzoek is dus noodzakelijk. Tot slot laten we zien dat de aanwezigheid van voedelstimuli (geuren en beelden) geen effect had op de metabole, neuronale en hormonale veranderingen die optreden tijdens vasten.

Ons voornaamste plan voor de toekomst, direct gerelateerd aan dit proefschrift, is om de effecten van gewichtsverlies te bestuderen in proefpersonen met overgewicht. We zullen dan kijken naar de hormonale veranderingen maar ook naar de veranderingen in de moleculaire signaaltransductieroutes in de skeletspier. De opzet van dit onderzoek staat in hoofdstuk 4 beschreven. Verder denken we dat het met name interessant zou zijn om een studie zoals beschreven in hoofdstuk 2 te herhalen maar met afname van bipten op een eerder tijdstip na de inname van de maaltijd om te zien of AMPK niet toch betrokken is op een vroeger moment tijdens vasten.

