



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Genetic determinants of cholesterol and energy metabolism : implications for cardiometabolic health

Blauw, L.L.

Citation

Blauw, L. L. (2018, September 20). *Genetic determinants of cholesterol and energy metabolism : implications for cardiometabolic health*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/65600>

Version: Not Applicable (or Unknown)

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/65600>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/65600> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Blauw, L.L.

Title: Genetic determinants of cholesterol and energy metabolism : Implications for cardiometabolic health

Issue Date: 2018-09-20

Nederlandse samenvatting

Waar infectieziekten voorheen de voornaamste doodsoorzaak vormden, leven we nu in een tijdperk waarin de meeste infectieziekten onder controle zijn en de mensheid wordt getroffen door niet-besmettelijke, chronische welvaartsziekten. Dit wordt overduidelijk uit de wereldwijde toename van het aantal mensen dat leidt aan cardiometabole aandoeningen, waarvan obesitas, type 2 diabetes en hart- en vaatziekten de grootste boosdoeners zijn. Het is daarom van groot belang dat we onderzoek doen naar de verbetering van de preventie en genezing van cardiometabole aandoeningen om de levensverwachting in goede gezondheid te verlengen.

De studies beschreven in dit proefschrift waren erop gericht om meer inzicht te verwerven in de genetische, fysiologische en omgevingsfactoren die de cholesterolstofwisseling en energiestofwisseling beïnvloeden. Tevens werd getracht om de bijdrage van deze factoren aan het risico op het ontwikkelen van cardiometabole ziekten te begrijpen en zo handvatten te bieden voor de ontwikkeling van preventieve en curatieve behandelingen. In **Hoofdstuk 1** beschrijven we de algemene principes en huidige kennis van de rol van de cholesterol- en energiestofwisseling in cardiometabole gezondheid.

Het eerste deel van dit proefschrift richtte zich op de cholesterolstofwisseling. Cholesterol is een onoplosbare vetachtige stof die talloze belangrijke functies vervult in het lichaam. Zo is cholesterol onder meer een essentieel onderdeel van celmembranen en is het nodig voor de vorming van steroïdenhormonen, vitamine D en galzuren. Cholesterol is niet oplosbaar in water en wordt daarom in het bloed getransporteerd in zogenaamde lipoproteïnen. Dit zijn bolvormige deeltjes die, zoals de naamgeving impliceert, zijn opgebouwd uit vetten (lipiden) en eiwitten (proteïnen). Lipoproteïnen hebben als doel om de in water onoplosbare vetten cholesteryl esters en triglyceriden te transporteren vanuit bijvoorbeeld de darmen en de lever naar overige weefsels via de bloedbaan. Triglyceriden en cholesteryl esters worden in de kern van de lipoproteïnen afgeschermd van het bloed, doordat ze zijn omgeven door een laag van zeepachtige moleculen die 'fosfolipiden' worden genoemd. Op basis van hun dichtheid worden lipoproteïnen ingedeeld naar toenemende dichtheid in chylomicronen, *very-low density lipoproteins* (VLDL), *low density lipoproteins* (LDL) en *high density lipoproteins* (HDL).

In dit proefschrift hebben we ons specifiek verdiept in de rol van het eiwit *cholesteryl ester transfer protein* (CETP) in de cholesterolstofwisseling. CETP is een eiwit dat circuleert in de bloedbaan en heeft als functie om vetten uit te wisselen tussen diverse lipoproteïnen.

CETP is in staat om cholesteryl esters uit HDL te transporteren naar VLDL en chylomicronen en andersom om triglyceriden vanuit VLDL en chylomicronen te transporteren naar HDL. Deze lipidenuitwisseling leidt tot een lipoproteïnenprofiel in het bloed (namelijk een hoog LDL en laag HDL) dat samengaat met een verhoogd risico op de ontwikkeling van slagaderverkalking. Om deze reden zijn in het verleden verscheidene geneesmiddelen ontwikkeld om de activiteit van CETP te remmen en daarmee het lipoproteïnenprofiel te verbeteren en het risico op hart- en vaatziekten te verlagen. Opvallend genoeg was het nog onbekend welke cellen in het lichaam verantwoordelijk zijn voor de aanmaak van CETP. Toen gestart werd met het testen van deze CETP remmers in klinische onderzoeken, werden zowel de lever als het vetweefsel verantwoordelijk gehouden voor de productie van CETP. Om de rol van CETP in het ontstaan van hart- en vaatziekten beter te begrijpen, was meer inzicht in de fysiologische en biologische functie van CETP vereist.

In **hoofdstuk 2** beschrijven we een studie waarin onderzocht werd of vetweefsel bijdraagt aan de concentratie van CETP in het bloed. Daartoe hebben we in een groep van 6606 deelnemers aan de Nederlandse Epidemiologie van Obesitas (NEO) studie bepaald wat het verband is tussen de hoeveelheid vetweefsel en de circulerende CETP concentratie. Als maten voor vetweefsel gebruikten we het totale lichaamsvetpercentage, de *body mass index* (BMI), de middelomtrek, de verhouding tussen middelomtrek en heupomtrek, het onderhuids en visceraal buikvet zoals bepaald met *magnetic resonance imaging* (MRI) en de totale vetmassa en de vetmassa in de romp zoals bepaald met *dual-energy X-ray absorptiometry* (DXA). Uit dit onderzoek konden we concluderen dat er geen bewijs is voor een klinisch relevant verband tussen de hoeveelheid vetweefsel en de circulerende CETP concentratie, wat impliceert dat vetweefsel niet bijdraagt aan de hoeveelheid CETP in het bloed. Deze resultaten ondersteunen een eerdere studie van onze onderzoeksgroep, waarin we aantoonde dat de CETP concentratie in het bloed voor het overgrote deel wordt bepaald door het aantal macrofagen in de lever, die ook wel Kupffer cellen worden genoemd.

Vanwege de primaire productie van CETP door deze Kupffer cellen, die een onderdeel vormen van het aangeboren immuunsysteem en de recente bevinding dat het bacteriële bestanddeel lipopolysaccharide de productie van CETP sterk vermindert, besloten we vervolgens te onderzoeken of ontsteking van de lever (zogenaamde 'metabole leverinflammatie') ook leidt tot een afname van de productie van CETP in de lever en de concentratie van CETP in het bloed, zoals is beschreven in **Hoofdstuk 3**. Daartoe verzamelden we bloed en leverbiopten van 93 personen met obesitas, die bariatrische chirurgie (bijvoorbeeld plaatsing van een maagband) ondergingen. Leverontsteking werd histologisch bepaald en de expressie van *CETP* in de lever, het aantal CETP-positieve levercellen en de circulerende

CETP concentratie werden gekwantificeerd. We zagen een trend richting lagere expressie van *CETP* in de lever, minder CETP-positieve cellen en een lagere circulerende CETP concentratie wanneer de bipten kenmerken van metabole leverontsteking vertoonden, maar het bewijs was niet overtuigend genoeg om te spreken van een robuuste omgekeerd verband tussen metabole leverontsteking en CETP-gerelateerde uitkomsten. Op basis van deze resultaten concludeerden we dat leverontsteking ten gevolge van een infectie een groter remmend effect heeft op de productie van CETP door Kupffer cellen dan metabole ontsteking. Wellicht is dus alleen een acute en uitgebreide ontstekingsreactie geïnduceerd door ziekteverwekkers in staat om een robuuste afname van de CETP productie teweeg te brengen.

Ondanks dat we steeds meer te weten komen over de biologie van CETP, is het nog onvoldoende duidelijk in welke mate genetische aanleg de hoeveelheid CETP in het bloed bepaalt. Daarom voerden we in **Hoofdstuk 4** een analyse uit van de genen van alle deelnemers aan de NEO studie om te bepalen welke genen bijdragen aan de circulerende CETP concentratie. Een dergelijke analyse wordt een genomwijde associatiestudie (GWAS) genoemd. We zochten specifiek naar kleine veranderingen in de volgorde van basenparen in het DNA, zogenoemde genetische varianten ofwel *single nucleotide polymorphisms* (SNPs), die in bepaalde personen voorkomen en die samengaan met een hogere concentratie CETP in het bloed. Deze personen noemen we dan dragers van de 'risicovariant'. Met deze DNA-analyse identificeerden we drie veelvoorkomende genetische varianten in het *CETP* gen (op de posities rs247616, rs12720922 en rs1968905). Deze drie varianten bepaalden samen 16,4% van de totale variatie in de circulerende CETP concentratie in de NEO studie populatie. Daarnaast identificeerden we zeldzame genetische varianten in het *ABCA6* gen die de circulerende CETP concentratie beïnvloeden, zoals vermeld staat in Hoofdstuk 5. Uit deze bevindingen concludeerden we dat de aanwezigheid of de functionaliteit van het ABCA6 eiwit de concentratie van CETP in de bloedbaan reguleert.

Na de identificatie van de drie veelvoorkomende genetische varianten die de concentratie van CETP in het bloed beïnvloeden, gebruikten we deze varianten vervolgens om een zogenaamde Mendeliaanse randomisatie studie uit te voeren. Met deze methode is het mogelijk om de causale effecten te onderzoeken van een toename van de circulerende CETP concentratie op het lipoproteïnenprofiel (NEO studie) en op het risico op coronaire hartziekten (CARDIoGRAMplusC4D consortium). Dit is van belang om de uitkomsten van de klinische onderzoeken met CETP remmers beter te begrijpen. In **Hoofdstuk 6** laten we zien dat een toename van de concentratie van CETP in het bloed voornamelijk leidt tot een causale verlaging van de grote HDL deeltjes en een causale toename van de kleine VLDL deeltjes, zonder daarbij een effect te hebben op de LDL deeltjes. Bovendien ging een toe-

name van de CETP concentratie oorzakelijk samen met een 8% hoger risico op coronaire hartziekten (**Hoofdstuk 4**). In dit opzicht is het uiterst interessant dat uit eerdere studies is gebleken dat van alle lipoproteïnen juist de concentratie van de deeltjes en het cholesterol van (zeer) klein VLDL het sterkst samengaan met een verhoogd risico op hart- en vaatziekten. Onze resultaten impliceren dan ook dat het verhoogde risico op hart- en vaatziekten, dat samengaat met een toename van de circulerende CETP concentratie, wordt veroorzaakt door een specifieke toename in de kleine VLDL deeltjes. Dit is in tegenstelling tot het huidige dogma dat bepleit dat CETP het risico op hart- en vaatziekten verhoogt via een verhoging van het cholesterol in LDL deeltjes.

Het tweede deel van dit proefschrift was gericht op de rol van de energiestofwisseling in de cardiometabole gezondheid. Het specifieke doel was om te onderzoeken hoe omgevings- en genetische factoren, waarvan bekend is dat ze de activiteit van bruin vet beïnvloeden, samengaan met energieverbruik en cardiometabole ziekten. Bruin vet is een belangrijke speler in het energieverbruik. In tegenstelling tot het welbekende witte vet dat vetten opslaat en kan leiden tot vetzucht, is bruin vet juist in staat om vetten te verbranden. Bruin vet wordt actief wanneer het lichaam wordt blootgesteld aan kou. Het is dan in staat om warmte te produceren door energie te verbranden die is opgeslagen in suiker (glucose) en vetten (triglyceriden). Naast de bruine vetcellen, die zich bevinden rondom de grote lichaamsslagader en langs de grote bloedvaten in de hals, bestaan er ook zogenaamde beige vetcellen. Dit zijn witte vetcellen die zich kunnen gedragen als bruine vetcellen wanneer het lichaam wordt blootgesteld aan kou, een fenomeen dat we 'bruining' van vetcellen noemen.

Geïnspireerd door recent onderzoek dat aantoonde dat tien dagen blootstelling aan kou het bruin vet activeert en de insulinegevoeligheid van mensen met type 2 diabetes verbetert, hebben wij het verband onderzocht tussen de gemiddelde jaarlijkse buitentemperatuur en het ontstaan van diabetes. Hiervoor gebruikten we gegevens uit de Verenigde Staten omdat daar grote openbare archieven bestaan, waarin gegevens over de temperatuur en de ziektestatus van de bevolking nauwkeurig worden bijgehouden. In **Hoofdstuk 7** beschrijven we dat een toename van 1 graad Celsius in de buitentemperatuur 100.000 nieuwe diabetes gevallen per jaar tot gevolg kan hebben in de Verenigde Staten. Deze bevindingen benadrukken het belang van toekomstig onderzoek naar de effecten van omgevingstemperatuur op de ontwikkeling van diabetes, zeker in het licht van de problematiek rondom de opwarming van de aarde.

Omdat er aanwijzingen zijn vanuit preklinische studies dat nicotine bruin vet activeert, bestudeerden we in **Hoofdstuk 8** het verband tussen roken en het energieverbruik in rust in 1189 deelnemers van de NEO studie. We toonden aan dat energieverbruik in rust hoger

was in personen die op dat moment rookten in vergelijking met personen die nooit hadden gerookt. We konden geen verschil aantonen in energieverbruik tussen personen die nooit hadden gerookt en voormalige rokers en er was ook geen verband met de duur en intensiteit van het roken. Op basis van deze resultaten concludeerden we dat roken voornamelijk acute effecten heeft op het energieverbruik.

Tenslotte beschrijven we in **Hoofdstuk 9** het verband tussen het genetisch dragerschap van een genetische risicovariant in het *fat mass and obesity-associated gene* (*FTO* gen) en vetverbranding, waarvoor we gegevens van 1246 deelnemers van de NEO studie analyseerden. We baseerden deze studie op de hypothese van een recent artikel waarin een potentiële genetische basis voor de activiteit van bruin vet werd aangedragen. In deze studie werd aangetoond dat een bepaalde verandering in de volgorde van basenparen in het *FTO* gen (in dit geval substitutie van de nucleotide thymine (T) naar cytosine (C) op positie rs1421085) leidde tot een verminderde bruining van voorlopers van vetcellen (zogenaamde preadipocyten). We vormden daarom de hypothese dat mensen die de risicovariant (C-variant) van deze genetische variant dragen minder capaciteit hebben om hun witte vetcellen die vet opslaan om te zetten in bruine vetcellen, die vet juist verbranden. Dit leidt mogelijk tot een verminderde vetverbranding, omdat geactiveerde bruine vetcellen selectief de vetverbranding verhogen ten opzichte van de glucoseverbranding. Desalniettemin vonden we geen verband tussen het dragen van de risicovariant en vetverbranding, ondanks dat dragers van de risicovariant meer lichaamsvet hadden. Onze resultaten impliceren dat de bijdrage van mogelijke bruining aan de totale energiestofwisseling te klein is om een effect te hebben op de vetoxidatie in deze mensen. We concludeerden daarom dat de genetische risicovariant in het *FTO* gen waarschijnlijk leidt tot obesitas via een ander mechanisme dan door vermindering van de vetverbranding.

Tot slot bediscussiëren we onze studiebevindingen, de implicaties voor vervolgonderzoek en de vooruitzichten voor preventieve en curatieve behandelingsmethoden van cardiometabole aandoeningen in **Hoofdstuk 10**. Concluderend kunnen we stellen dat de studies die beschreven zijn in dit proefschrift ons begrip hebben vergroot over de fysiologische, omgevings- en genetische factoren die de cholesterol- en energiestofwisseling beïnvloeden en ons inzicht hebben gegeven in hun bijdrage aan de cardiometabole gezondheid.