



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The contribution of metabolic and adipose tissue inflammation to non-alcoholic fatty liver disease

Mulder, P.C.A.

Citation

Mulder, P. C. A. (2017, February 16). *The contribution of metabolic and adipose tissue inflammation to non-alcoholic fatty liver disease*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/46137>

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/1887/46137>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/46137> holds various files of this Leiden University dissertation

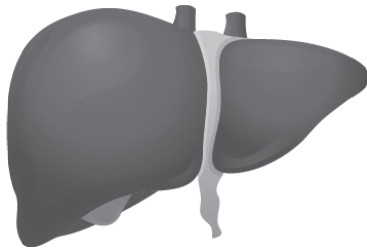
Author: Mulder, P.C.A.

Title: The contribution of metabolic and adipose tissue inflammation to non-alcoholic fatty liver disease

Issue Date: 2017-02-16

Chapter 9

Nederlandse samenvatting



Door de obesitas epidemie is de niet-alcoholische vetleverziekte ('non-alcoholic fatty liver disease', NAFLD) nu de meest voorkomende chronische leverziekte wereldwijd. Ongeveer 25 tot 45% van de bevolking heeft te maken met niet-alcoholische leververvetting. De prevalentiecijfers onder obese individuen lopen zelfs op tot 90%. De term 'NAFLD' omvat verschillende stadia van deze aandoening, variërend van 'simpele' vette lever gekenmerkt door ophoping van vet in de lever (steatose) en leververvetting met ontsteking (niet-alcoholische steatohepatitis, NASH), dat op den duur kan overgaan in littekenvorming (fibrose) en levercirrose. Een 'simpele' vette lever wordt vaak gezien als een relatief goedaardige aandoening, terwijl patiënten met NASH een vergroot risico hebben op het ontwikkelen van metabole ziekten, waaronder cardiovasculaire aandoeningen. Bovendien is NASH een belangrijke oorzaak van levergerelateerde morbiditeit en mortaliteit. Momenteel zijn de mogelijkheden om NASH patiënten te kunnen behandelen beperkt en daarom is het van groot belang om mechanismen te ontdekken waarop nieuwe, effectieve medicijnen kunnen aangrijpen. Hoe NAFLD ontstaat en welke onderliggende mechanismen ten grondslag liggen aan de overgang van steatose naar NASH en fibrose zijn echter onbekend. Er wordt gedacht dat ontsteking een belangrijk onderdeel vormt voor de ontwikkeling van NASH. Een hypothese stelt dat deze ontsteking veroorzaakt kan worden door metabole overbelasting van organen (door een overschot aan energie of macronutriënten) en wordt daarom ook wel 'metabole ontsteking' genoemd. Men denkt dat het vetweefsel hierin een belangrijke bron van ontsteking kan zijn. Het doel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift was om meer inzicht te krijgen in de etiologie van NAFLD. De nadruk lag hierbij op de mogelijke rol van het vetweefsel in het ziekteproces. Daarnaast is er gekeken naar onderliggende mechanismen die ten grondslag liggen in het ontstaan van metabole ontsteking.

In **hoofdstuk 2** hebben we de opeenvolging van ontstekingsprocessen in verschillende vetweefsel depots en de lever onderzocht gedurende hoog vet dieet geïnduceerde obesitas in C57BL/6J muizen. Dit hoofdstuk laat zien dat niet alle vetweefsel depots even vatbaar zijn voor het ontwikkelen van metabole ontsteking. Het viscerale perigonadale vetweefsel (buikvet) was het eerste vetdepot waar de metabole ontsteking zich openbaarde. Deze ontsteking leek gerelateerd te zijn aan de maximale expansie van dit vetdepot en de vetcellen daarin. Het ontstaan

van ontsteking in het perigonadale vet ging vooraf aan de ontwikkeling van leverontsteking. Met andere woorden, de ontsteking in het vetweefsel ging vooraf aan de overgang van steatose naar NASH. Vervolgens hebben we onderzocht of het ontstoken vetdepot een oorzakelijke rol speelt in de progressie van NASH. We hebben hierbij laten zien dat het operatief verwijderen van het ontstoken perigonadale vetdepot, de ontwikkeling van leverontsteking vermindert en de concentratie van bepaalde circulerende ontstekingsfactoren (zoals cytokines en vetzuren) verlaagd. Deze pro-inflammatoire mediators, ook wel adipokines genoemd, vormen mogelijk de verbinding tussen het ontstoken vetweefsel en de ontwikkeling van NASH.

Metabole ontsteking in het vetweefsel speelt mogelijk een belangrijke rol in de ontwikkeling van metabole complicaties, zoals NAFLD en insuline resistentie (een van de voortekenen van diabetes). Daarom hebben we in **hoofdstuk 3** onderzocht of het therapeutisch behandelen met rosiglitazone, een antidiabetica met vermeende anti-inflammatoire effecten in het vetweefsel, de ontwikkeling van NAFLD kan verminderen in obese LDLr^{-/-} muizen. De behandeling met rosiglitazone leidde tot een verbetering van diabetes symptomen (d.w.z. een verlaging van glucose en insuline concentraties in het bloed). Parallel daaraan zagen we een verminderde ontsteking in het perigonadale vetdepot en verlaagde concentraties van verschillende circulerende pro-inflammatoire adipokines. In de lever zagen we een afname van steatose, en consistent met de rol van het ontstoken vetweefsel in de ontwikkeling van leverontsteking, observeerden we een verminderde activiteit van ontstekingsgerelateerde processen in de lever. Rosiglitazone had echter geen effect op de ontwikkeling van obesitas. Mogelijk zorgde de veranderde vetopslag in het lichaam (door het stimuleren van de aanmaak van vetcellen in het 'veilige' onderhuidse vetdepot) voor de vermindering van de ontstekingsgraad in het perigonadale vetdepot en de daarmee geassocieerde NAFLD ontwikkeling.

Er wordt gedacht dat activatie van een bepaalde chemokine receptor (CCR2) een belangrijk onderdeel vormt in het initiëren van de ontstekingsreactie in metabole ziekten. Deze receptor is namelijk onder andere betrokken bij de infiltratie van immuuncellen (zoals macrofagen) in het vetweefsel en de lever. Daarom hebben we in **hoofdstuk 4** de effecten van een CCR2 interventie bestudeerd op de ontwikkeling van NASH in een muismodel met dieet geïnduceerde obesitas. Deze interventie

werd gestart op verschillende tijdstippen (vroeg en laat) in de ziekteontwikkeling om zo te onderzoeken of een CCR2 antagonist NASH kan verminderen. Deze studie laat zien dat de vroege ziekteverschijnselen, d.w.z. insuline resistentie en vetweefselontsteking, alleen verbeterd werden wanneer er in een vroeg stadium behandeld werd met de CCR2 antagonist. Daarnaast zagen we dat zowel de vroege als late behandeling gunstige effecten kan hebben op de mate van leverontsteking, echter leidde alleen de vroege behandeling tot uitgesproken histologische effecten in de lever. Deze resultaten suggereren dat alleen vroegtijdig behandelen met een CCR2 antagonist effectief is tegen NASH.

In **hoofdstuk 5** bestudeerden we de effecten van een interventie gericht op het NLRP3 inflammasome, één van de sensoren van metabole overbelasting, op de ontwikkeling van NAFLD. Om dit te onderzoeken zijn obese LDLr^{-/-}-Leiden muizen behandeld met een caspase-1 remmer. Deze interventie had geen effect op de mate van obesitas of de vetweefselmassa in de muizen, maar verminderde wel de ontsteking in het perigonadale vetweefsel en parallel daaraan nam de algehele insuline resistentie af. Bovendien zorgde de behandeling voor een verminderde ontwikkeling van NAFLD wat te zien was aan de afname van steatose, ontsteking en fibrose in de lever. Dit suggereert dat beïnvloeding van het inflammasome een belangrijk aangrijpingspunt kan zijn voor het behandelen van insuline resistentie en NAFLD.

Naast de genoemde farmacologische interventies in hoofdstukken 3-5, onderzochten we in **hoofdstuk 6** de potentiële waarde van een voedingsinterventie op het verminderen van metabole ontsteking en ziekteontwikkeling. In dit hoofdstuk hebben we laten zien dat (isocalorische) vervanging van diëtair verzadigd vet met pompoenzaadolie, dat rijk is aan meervoudig onverzadigd vetzuren, de ontwikkeling van dyslipidemie verminderd in ApoE*3Leiden muizen. Daarnaast had de pompoenzaadolie gunstige effecten op NASH en de daarmee geassocieerde atherosclerose (de basis voor vele cardiovasculaire aandoeningen). Bovendien vonden we dat de ongeraffineerde variant van de pompoenzaadolie (dat fytochemische stoffen met vermeende anti-inflammatoire effecten bevat) nog bijkomende gunstige effecten hadden op het vetmetabolisme en ontsteking in de lever, wat leidde tot een uitgesproken vermindering van NAFLD en de daarmee geassocieerde atherosclerose ontwikkeling.

In **hoofdstuk 7** zijn de verschillende manieren van vetstapeling in de lever bestudeerd, om meer inzicht te krijgen hoe leververvetting kan leiden tot leverontsteking. Vetstapeling in de lever kan men op histologisch niveau onderverdelen in twee vormen van steatose, namelijk macrovesiculaire steatose en microvesiculaire steatose. Macrovesiculaire steatose wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van één grote vetdruppel in een lever cel, terwijl microvesiculaire steatose bestaat uit grote hoeveelheden kleine vetdruppeltjes in een lever cel. Metabole overbelasting kan resulteren in zowel macrovesiculaire steatose als microvesiculaire steatose. Het is echter onbekend welke manier van leververvetting bijdraagt aan de ontwikkeling van NASH. Om dit te kunnen onderzoeken hebben we de mogelijke relatie tussen de verschillende steatose types en de ontwikkeling van leverontsteking bestudeerd in verschillende experimentele NASH modellen (in ApoE*3Leiden.CETP, C57BL/6J en LDLr-/-Leiden muizen). Hierbij vonden we een sterke positieve correlatie tussen de mate van macrovesiculaire steatose en leverontsteking, maar niet bij microvesiculaire steatose, in de verschillende muismodellen voor NASH.

Samenvattend, dit proefschrift beschrijft dat metabole ontsteking een belangrijke rol speelt in de ontwikkeling van metabole ziekten zoals insuline resistentie, niet-alcoholische vetleverziekte (NAFLD) en atherosclerose. Bovendien is aangetoond dat het vetweefsel een oorzakelijke rol kan hebben in de progressie van obesitas geassocieerde NAFLD. Mogelijk draagt de ontstekingsgraad in het vetweefsel bij aan de uitscheiding van specifieke pro-inflammatoire factoren (zoals cytokines en vetzuren) die de lever kunnen beïnvloeden. Bij de ontwikkeling van metabole ontsteking in het vetweefsel lijkt niet de totale hoeveelheid vetmassa van belang te zijn, maar eerder de manier waarop overtollige energie wordt opgeslagen (bijvoorbeeld door het groter laten worden van bestaande vetcellen). Niet alleen de manier van vetstapeling in het vetweefsel, maar ook de wijze van vetstapeling in de lever zelf (d.w.z. meer macrovesiculaire steatose), kan betrokken zijn bij de ontwikkeling van metabole ontsteking in de lever. Tenslotte hebben we aangetoond dat interventies gericht op het onderdrukken van de metabole ontsteking waardevol kunnen zijn om de ziekteontwikkeling te voorkomen of vertragen.