

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/36380> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Kooijman, Sander

Title: Neural control of lipid metabolism and inflammation : implications for atherosclerosis

Issue Date: 2015-11-18

10

SUMMARY

NEDERLANDSE SAMENVATTING

LIST OF PUBLICATIONS

CURRICULUM VITAE

SUMMARY

Cardiovascular disease (CVD) is currently the leading cause of morbidity and mortality in our Western society. The main cause of CVD is atherosclerosis, for which dyslipidemia and inflammation are major risk factors. The autonomic nervous system (ANS) is known to innervate key organs involved in lipid metabolism and immune responses, and is therefore a potential target to prevent or treat CVD. In **Chapter 1** we provide an overview of the autonomic control of energy homeostasis, inflammatory reflexes and the potential interactions.

The hypothalamus, particularly the melanocortin system, integrates nutritional information originating from peripheral organs mediated through circulating hormones and metabolites. It responds by regulating food intake and energy expenditure. In **Chapter 2** we set out to investigate the underlying mechanism of the association between melanocortin 4 receptor (MC4R) deficiency and reduction in energy expenditure. We continuously infused the MC4R antagonist SHU9119 or vehicle into the lateral ventricle of mice for two weeks. We found that SHU9119 increased food intake and body weight, and markedly diminished fat oxidation and the uptake of [³H]oleate from glycerol tri[³H]oleate-labeled lipoprotein-like emulsion particles by brown adipose tissue (BAT). In BAT, SHU9119 decreased uncoupling protein-1 (UCP1) protein levels resulting in a lower core body temperature. All of these effects were independent of the increased food intake as mice that received SHU9119 while being pair-fed to the vehicle treated group still exhibited these effects. We concluded that inhibition of the MC4R signalling impairs BAT function accompanied by reduced energy expenditure thereby promoting adiposity.

Next, in **Chapter 3**, we determined the potential beneficial metabolic effects of activation of the melanocortin system by the glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogue exendin-4. Chronic central infusion of exendin-4 enhanced sympathetic outflow towards BAT and increased the UCP1 content in BAT in both lean and diet-induced obese mice. This activation of BAT was accompanied by enhanced uptake of fatty acids from glycerol tri[³H]oleate-labeled lipoprotein-like emulsion particles and [¹⁴C]deoxyglucose by BAT, resulting in lower plasma TG and glucose concentrations, and reduced body weight. Pair-fed animals were included during all experiments to confirm that regulation of BAT by the central melanocortin system was independent of food intake. Collectively, these data suggest that BAT is a major contributor in the regulation of energy expenditure by the central melanocortin system and we anticipate that activation of this system, *e.g.* by GLP1 receptor activation, is a promising strategy to combat obesity and related disorders by increasing BAT activity.

Another brain region that is highly involved in regulation of lipid metabolism is the suprachiasmatic nucleus (SCN) that drives circadian rhythms. In general, disturbed

circadian rhythmicity is associated with obesity and related disorders such as CVD. Specifically, prolonged artificial light exposure associates with obesity in humans. In **Chapter 4** we aimed to investigate the underlying mechanism in an experimental mouse study. Mice were exposed to prolonged 16 h or 24 h of light per day and effects were compared to exposure to 12 h of light per day. Increasing the daily light exposure for 5 weeks increased body fat mass without affecting food intake or locomotor activity. Mechanistically, we demonstrated that prolonged light exposure decreases sympathetic input into BAT, reduces β 3-adrenergic intracellular signalling as well as the uptake of fatty acids from glycerol tri 3 H]oleate-labeled lipoprotein-like emulsion particles and [14 C]deoxyglucose by BAT. Surgical sympathetic denervation of BAT completely abolished effects of light exposure on the uptake of 3 H]oleate by BAT, indicating a crucial role for the sympathetic nervous system (SNS). We concluded that impaired BAT activity is an important mediator in the association between disturbed circadian rhythm and adiposity and anticipate that activation of BAT may overcome the adverse metabolic consequences of disturbed circadian rhythmicity.

Activity of the SCN adapts to seasonal changes in light exposure. Interestingly, detectability of human BAT by [18 F]fluorodeoxyglucose (FDG) PET-CET scans at room temperature follows a circannual cycle, with low detectability of BAT in summer as compared to winter. Although differences in outside temperature over the year would be a likely explanation for this phenomenon, the detectability of BAT showed a stronger correlation with daily light exposure than with outside temperature. In **Chapter 5**, we evaluated this relationship in mice that were exposed to 8 h, 12 h or 16 h of light per day. The uptake of 3 H]oleate by BAT from glycerol tri 3 H]oleate-labeled lipoprotein-like emulsion particles showed a strong daily rhythm. Additionally, expression of genes involved in thermogenesis revealed comparable patterns, mostly the expression being highest at the end of the resting phase. Strikingly, compared to 12 h, the rhythmicity of BAT was highest in mice exposed to 8 h of light per day, accompanied by an increased overall uptake of 3 H]oleate by BAT while 16 h of light per day markedly flattened the rhythm and lowered overall uptake of 3 H]oleate by BAT.

Rimonabant is a systemic cannabinoid 1 receptor (CB1R) blocker that induces sustained weight loss and lowering of plasma TG levels in obese patients. In **Chapter 6**, we determined whether the beneficial metabolic effects of rimonabant were due to activation of BAT. Diet-induced obese mice were treated with rimonabant, resulting in lowered body weight and enhanced energy expenditure accompanied by increased uptake of 3 H]oleate from glycerol tri 3 H]oleate-labeled lipoprotein-like emulsion particles by BAT. Of note, these results could be fully recapitulated at thermoneutral temperature, which reduces sympathetic outflow to BAT, suggesting that the mechanism involves direct rather than SNS-mediated activation of BAT. Indeed, we demonstrated that the CB1R is expressed in BAT and that blockade of the

CB1R in cultured brown adipocytes *in vitro* increases UCP1 content and intracellular lipolysis. Furthermore, treatment of mice with the peripheral CB1R antagonist AM6545 resulted in comparable lowering of body weight and activation of BAT. Taken together we concluded that the TG-lowering effect of rimonabant is due to peripheral blockade of the CB1R on BAT.

Part II of this thesis describes studies on the regulation of inflammation by the ANS, with focus on the cholinergic anti-inflammatory reflex. In this reflex, acetylcholine is released upon ANS activity and stimulates $\alpha 7$ AChR, which is highly expressed on immune cells and platelets, resulting in attenuation of NF- κ B-mediated gene expression of pro-inflammatory cytokines. In **Chapter 7**, we studied the effects of hematopoietic $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor ($\alpha 7$ nAChR) deficiency on inflammation, platelet activation status and atherosclerosis in *Ldlr*^{-/-} mice. To this end, bone marrow from *$\alpha 7$ nAChR*^{-/-} or wildtype mice was transplanted into *Ldlr*^{-/-} mice. Hematopoietic $\alpha 7$ nAChR deficiency increased the number of leukocytes in the peritoneum, lymph nodes, spleen and blood accompanied by increased expression of pro-inflammatory cytokines in spleen and peritoneal leukocytes. Additionally, we found increased activation status of platelets. Likewise, incubation of human platelets with an $\alpha 7$ nAChR agonist decreased aggregation. Despite the large effects of hematopoietic $\alpha 7$ nAChR deficiency on inflammatory status and platelet function, it did not affect atherosclerosis development or composition of lesions.

The cholinergic anti-inflammatory reflex is proposed to act mainly via the spleen. Therefore, in **Chapter 8**, we assessed the effects of selective parasympathetic and sympathetic denervation of the spleen on inflammation and atherosclerotic lesion development in APOE*3-Leiden.CETP mice. Selective parasympathetic denervation increased leukocyte counts in the spleen and increased gene expression of pro-inflammatory cytokines in the liver and in peritoneal leukocytes as compared to sympathetic denervation and sham surgery. Further, plasma levels of IL-6 and IL-1 β were increased in parasympathetically denervated mice. However, the increased pro-inflammatory status in parasympathetically denervated mice did not affect atherosclerotic lesion size or lesion composition.

Finally, we evaluated the results of this thesis in **Chapter 9** and discussed the potency of targeting the ANS for treatment of obesity and CVD, with special attention for BAT activation as a highly relevant and emerging pharmaceutical target. Collectively, the studies described in this thesis have increased our insight into regulation of energy metabolism and inflammation by the ANS.

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Hart- en vaatziekten zijn de voornaamste doodsoorzaak in de wereld op het moment van schrijven. Zij zijn vaak het gevolg van vernauwing van bloedvaten door plaatselijke ontstekingen en ophopingen van vetten. Dit proces noemen ook wel aderverkalking of 'atherosclerose'. Onderzoek in de afgelopen jaren heeft aangetoond dat de hersenen, ofwel het 'centrale zenuwstelsel', een belangrijke rol spelen bij het aansturen van de verwerking van vetten door het lichaam en het moduleren van ontstekingen. Deze processen vinden onbewust plaats en worden gecontroleerd door het autonome zenuwstelsel, een onderdeel van het centrale zenuwstelsel. In dit proefschrift werd de manier waarop het autonome zenuwstelsel dit doet bestudeerd, wat mogelijk resulteert in nieuwe aangrijpingspunten in de preventie en behandeling van hart- en vaatziekten.

Hoofdstuk 1 geeft een algemene introductie op de onderwerpen die besproken worden in dit proefschrift. Hierin wordt onder andere beschreven dat obesitas een belangrijke risicofactor vormt voor het ontwikkelen van hart- en vaatziekten. Obesitas ontstaat door een 'positieve energiebalans', waarbij de voedselinname groter is dan het energieverbruik. Onderzoek aan systemen die voedselinname en energieverbruik regelen kan daarom belangrijke informatie opleveren die niet alleen gebruikt kan worden in de strijd tegen obesitas, maar ook in de strijd tegen hart- en vaatziekten. Daarnaast wordt de functie van bruin vet beschreven. Bruin vet is een uniek orgaan dat in pasgeboren kinderen en in kleine zoogdieren een cruciale rol speelt bij het handhaven van de lichaamstemperatuur. Omdat baby's een relatief groot lichaamsoppervlak hebben waardoor relatief veel warmte wordt afgegeven aan de omgeving dient bruin vet warmte te genereren. Bruin vet heeft de unieke eigenschap om energie die opgeslagen is in vet en suiker te verbranden tot warmte, ofwel 'thermogenese'. Hiertoe bevatten bruine vetcellen het ontkoppelingseiwit UCP1. Pas recent is ontdekt dat bruin vet ook aanwezig én actief is in volwassenen en geactiveerd wordt door blootstelling aan een lage omgevingstemperatuur.

Obesitas is in sommige gevallen erfelijk. Mutaties in het gen dat codeert voor de melanocortine 4 receptor (MC4R), wat leidt tot deficiënte voor dit eiwit, vormen de meest voorkomende erfelijke oorzaak van obesitas. Het niet goed functioneren of ontbreken van de MC4R in mensen resulteert niet alleen in verhoogde eetlust maar vermindert ook het energieverbruik. In **Hoofdstuk 2** onderzochten we in muizen het mechanisme waardoor MC4R-deficiëntie het energieverbruik vermindert door een remmer van de MC4R te infunderen in de hersenen. Infusie van de remmer resulteerde in snelle gewichtstoename wat gepaard ging met een toename van de voedselinname en een afname in het energieverbruik. We toonden aan dat de verlaging in het energieverbruik veroorzaakt werd door verminderde activiteit van

het sympathische zenuwstelsel, onderdeel van het autonome zenuwstelsel, vanuit de hersenen richting het bruin vet. Dit heeft tot gevolg dat het bruin vet minder actief is, wat bleek uit minder expressie van UCP1 en een ophoping van vet in het bruin vet weefsel, waardoor het minder vetten kon opnemen vanuit de bloedbaan. Om specifiek de bijdrage van het bruin vet in de gewichtstoename te onderzoeken hebben we muizen die behandeld werden met de MC4R remmer op dieet gezet waarbij de muizen precies evenveel aten als de muizen in de controlegroep. Uit dit experiment konden bleek dat remming van de MC4R gewichtstoename gaf onafhankelijk van de voedselinname, wat zeer waarschijnlijk werd veroorzaakt door een verlaagde activiteit van het bruin vet. We concludeerden dat het melanocortinesysteem, waarvan MC4R deel uitmaakt, een dubbele rol vervult: enerzijds reguleert het de eetlust en anderzijds reguleert het energieverbruik door de activiteit van bruin vet te moduleren.

Deze dubbele rol van het melanocortinesysteem maakt dit systeem een aantrekkelijk aangrijpingspunt voor medicatie. Het melanocortinesysteem wordt geactiveerd door onder andere hormonen die vrijkomen bij voedselinname, namelijk leptine, insuline en het zogenaamde *glucagon-like peptide 1* (GLP-1). Momenteel worden analoga van GLP-1 zoals 'exenatide' ofwel 'exendin-4' ontwikkeld voor de behandeling van type 2 diabetes (T2D). Het was al bekend dat deze middelen gewichtsafname geven, maar het precieze mechanisme was nog onbekend. Vanuit de resultaten die beschreven zijn in hoofdstuk 2 was onze hypothese dat exendin-4 bruin vet zou kunnen activeren. Om dit te onderzoeken hebben we in **Hoofdstuk 3** exendin-4 direct in de hersenen van muizen geïnfundeed. Dit resulteerde in een afname van lichaamsgewicht wat veroorzaakt werd door een selectieve afname van lichaamsvet, en ging gepaard met verlaging van de voedselinname en een toename in energieverbruik. Mechanistisch onderzoek toonde aan dat de sympathische signalering vanuit de hersenen naar bruin vet was verhoogd. Dit leidde tot een verhoogde aanwezigheid van UCP1 in bruin vet en verhoogde de opname van vetten en glucose uit het bloed door bruin vet. Deze gunstige resultaten vonden we niet alleen in slanke muizen, maar ook in obese muizen die insulineresistent zijn. Deze studie geeft aan dat de gunstige effecten van GLP-1 analoga op de stofwisseling in T2D patiënten deels verklaard zouden kunnen worden door activatie van het bruin vet.

Een ander belangrijk systeem in de hersenen, de centrale biologische klok, regelt het dag- en nachtritme van het lichaam dat ook wel het 'circadiane ritme' wordt genoemd. Verstoringen van dit ritme als gevolg van bijvoorbeeld ploegendiensten, zijn geassocieerd met de ontwikkeling van obesitas en hart- en vaatziekten. Mogelijke oorzaken hiervoor zijn het verstoren van het slaap-, activiteits-, en eetpatroon, dan wel blootstelling aan licht op ongebruikelijke tijdstippen. Een recent onderzoek heeft laten zien dat er een relatie is tussen blootstelling aan licht in de nacht en

het lichaamsgewicht van mensen, maar een oorzakelijk verband en onderliggende mechanismen waren nog niet aangetoond. Om dit te onderzoeken hebben we in **Hoofdstuk 4** muizen blootgesteld aan een verschillend aantal uren licht per etmaal: 12 uur, 16 uur of 24 uur. We toonden aan dat met een langere lichtperiode per etmaal de hoeveelheid lichaamsvet toeneemt terwijl de muizen niet meer aten of minder bewogen. Ook hier bleek activiteit van bruin vet een cruciale factor. Hoe langer de lichtperiode, hoe lager de sympathische signalering vanuit de hersenen naar het bruin vet en hoe minder het bruin vet in staat is om vetten en glucose uit de bloedbaan op te nemen en te verbranden. We concludeerden dat een optimaal dag- en nachtritme cruciaal is voor een hoge activiteit van bruin vet.

In mensen kan bruin vet zichtbaar gemaakt worden door opname van een radioactief glucose-analoog te detecteren met PET-CT scans die ook worden uitgevoerd voor diagnostische doeleinden in de oncologie. Interessant is dat, wanneer men PET-CT scans over het jaar heen bekijkt, bruin vet vaker detecteerbaar is in de winter- dan in de zomermaanden. Dit kan natuurlijk veroorzaakt worden door de lage temperatuur in deze maanden. Echter, de detecteerbaarheid van bruin vet bleek beter overeen te komen met de lengte van de lichtperiode dan met de buitentemperatuur. In **Hoofdstuk 5** onderzochten we de effecten van blootstelling aan een korte lichtperiode (8 uur per etmaal, overeenkomend met de winter) en een lange lichtperiode (16 uur per etmaal, overeenkomend met de zomer) op de activiteit van bruin vet in muizen. Terwijl blootstelling aan een lange lichtperiode de functie van bruin vet verminderde, overeenkomend met bevindingen uit **Hoofdstuk 4**, resulteerde blootstelling aan een korte lichtperiode in een verhoogde activiteit van het bruin vet. Deze observaties suggereren dat het korter worden van de dagen bij het naderen van de winter de activiteit van het bruin vet verhoogt om het organisme voor te bereiden op een lagere omgevingstemperatuur. Daarnaast onderzochten we de activiteit van bruin vet over de dag in de muizen en toonden aan we dat bruin vet het meest actief is als de muizen ontwaken aan het einde van de rustperiode.

Naast lichaamseigen eiwitten en de biologische klok werd onderzoek gedaan naar stoffen die bruin vet kunnen activeren. Rimonabant is een geneesmiddel dat op de markt was voor patiënten met sterk overgewicht en T2D. Rimonabant verlaagde niet alleen het lichaamsgewicht maar verbeterde ook risicofactoren voor hart- en vaatziekten. Binnen een jaar is rimonabant echter weer van de markt gehaald doordat het ernstige bijwerkingen had waaronder depressie. Desalniettemin is het interessant om te achterhalen hoe rimonabant deze gunstige effecten op de stofwisseling teweegbrengt. Hiertoe behandelden we obese muizen met rimonabant zoals beschreven in **Hoofdstuk 6**. Ook in muizen induceerde rimonabant een aanzienlijk gewichtsverlies en verbeterde het de bloedwaardes van vetten. Dit bleek het gevolg van een verhoogde opname van vetten door bruin vet weefsel. Deze effecten bleven zelfs aanwezig wanneer de signalering tussen hersenen en

bruin vet minimaal was: een zogenaamde 'thermoneutrale' omgevingstemperatuur waarbij bruin vet in principe geen warmte hoeft te genereren voor het handhaven van de lichaamstemperatuur. Deze bevinding suggereerde dat rimonabant bruin vet direct zou kunnen activeren. Inderdaad konden we aantonen dat het eiwit waar rimonabant aan bindt, de cannabinoïde 1 receptor (CB1R), niet alleen in de hersenen voorkomt maar ook in bruin vet. Om nog een stap verder te gaan gebruikten we in een nieuwe experiment een ander middel dat op rimonabant lijkt maar de hersenen niet kan binnendringen. Ook dit middel activeerde bruin vet en veroorzaakte gewichtsverlies. We concludeerden dan ook dat het eiwit waar rimonabant aan bindt een veelbelovend farmacologisch aangrijpingspunt is voor de behandeling van obesitas en mogelijk ook hart- en vaatziekten.

In het tweede deel van dit proefschrift wordt dieper ingegaan op de controle van ontstekingsprocessen door het autonome zenuwstelsel. De $\alpha 7$ nicotinerge acetylcholine receptor ($\alpha 7$ nAChR) is een eiwit dat aanwezig is op verschillende cellen van het immuunsysteem en dat geactiveerd kan worden door signalen vanuit het autonome zenuwstelsel. Activatie van dit eiwit onderdrukt ontstekingsprocessen. In **Hoofdstuk 7** onderzochten we de gevolgen van het ontbreken van deze receptor op immuuncellen voor de ontwikkeling van aderverkalking in muizen. We toonden aan dat het aantal witte bloedcellen in verschillende organen verhoogd was en dat die cellen ook actiever waren. Daarnaast waren bloedplaatjes ook in een hogere staat van paraatheid. Ondanks deze effecten op het immuunsysteem, vonden we geen nadelige gevolgen voor aderverkalking.

De milt is een belangrijk orgaan waar signalen vanuit het autonome zenuwstelsel bestemd voor immuuncellen vrijkomen. Deze signalen bereiken de milt via twee typen zenuwbanen, namelijk sympathische zenuwbanen en parasympathische zenuwbanen. In de studie beschreven in **Hoofdstuk 8** onderzochten we de effecten van het chirurgisch verbreken van deze zenuwbanen op het immuunsysteem en de ontwikkeling van aderverkalking. Terwijl het verbreken van sympathische signalering nauwelijks effect had op immuuncellen, resulteerde het verbreken van parasympathische signalering in een verhoogd aantal immuuncellen in de milt. Verder resulteerde het verwijderen van zowel sympathische als parasympathische zenuwbanen tot een verhoogde productie van inflammatoire moleculen, zogenaamde cytokines. Echter, ook deze ingreep bleek geen gevolgen te hebben voor het ontstaan van aderverkalking.

Tot slot worden in **Hoofdstuk 9** alle resultaten bediscussieerd en de mogelijkheden besproken van nieuwe therapieën voor de preventie en behandeling van obesitas en verwante ziektebeelden als T2D en hart- en vaatziekten. Samenvattend hebben we aangetoond dat de hersenen, en meer specifiek het autonome zenuwstelsel, een belangrijke rol spelen bij de verwerking van vetten in het lichaam en de modulatie van ontstekingsreacties. Wanneer dergelijke processen verstoord worden kan

dit resulteren in obesitas en mogelijk in hart- en vaatziekten. Daarnaast laten we zien dat activatie van bruin vet een veelbelovend aangrijpingspunt kan zijn om het energieverbruik te verhogen en obesitas tegen te gaan. Recent hebben we ook in muizen aangetoond dat activatie van bruin vet aderverkalking kan voorkomen. Momenteel wordt zowel door anderen als door onze groep veel onderzoek gedaan naar de mogelijk gunstige effecten van activatie van bruin vet op de stofwisseling in de mens.

LIST OF PUBLICATIONS

1. Kazem S, van der Meijden E, [Kooijman S](#), Rosenberg AS, Hughey LC, Browning JC, Sadler G, Busam K, Pope E, Benoit T, Fleckman P, de Vries E, Eekhof JA, Feltkamp MC. Trichodysplasia spinulosa is characterized by active polyomavirus infection. **J Clin Virol** **2012**; 53: 225-230
2. Bruinstroop E, la Fleur SE, Ackermans MT, Foppen E, Wortel J, [Kooijman S](#), Berbée JFP, Rensen PC, Fliers E, Kalsbeek A. The autonomic nervous system regulates postprandial hepatic lipid metabolism. **Am J Physiol Endocrinol Metab** **2013**; 304: E1089-1096
3. Boon MR, Geerling JJ, [Kooijman S](#), Parlevliet ET, Havekes LM, Romijn JA, Meurs IM, Rensen PCN. Sympathetic nervous system control of triglyceride metabolism: novel concepts derived from recent studies (review). **J Lipid Res** **2014**; 55: 180-189
4. [Kooijman S](#), Boon MR, Parlevliet ET, Geerling JJ, van de Pol V, Romijn JA, Havekes LM, Meurs I, Rensen PCN. Inhibition of the central melanocortin system decreases brown adipose tissue activity. **J Lipid Res** **2014**; 10: 2022-2032
5. [Kooijman S*](#), Boon MR*, van Dam AD, Pelgrom LR, Berbée JFP, Visseren CAR, Van Aggele RC, van den Hoek AM, Sips HCM, Lombès M, Havekes LM, Tamsma JT, Guigas B, Meijer OC, Jukema JW, Rensen PCN. Cannabinoid 1 receptor blockade diminishes obesity and dyslipidemia via peripheral activation of brown adipose tissue. **FASEB J** **2014**; 28: 5361-5375
[* Authors contributed equally]
6. [Kooijman S](#), Meurs I, van der Stoep M, Habets KL, Lammers B, Berbée JF, Havekes LM, van Eck M, Romijn JA, Korpelaar SJ, Rensen PC. Hematopoietic $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor deficiency increases inflammation and platelet activation status, but does not aggravate atherosclerosis. **J Thromb Haemost** **2015**; 13: 126-135
7. Khedoe PPSJ, Hoeke G, [Kooijman S](#), Dijk W, Kersten S, Havekes LM, Hiemstra P, Berbée JFP, Rensen PCN, Boon MR. Brown adipose tissue takes up plasma triglycerides mostly after lipolysis. **J Lipid Res** **2015**; 56: 51-59
8. [Kooijman S*](#), Meurs I*, van Beek L, Khedoe PPSJ, Giezekamp A, Pike-Overzet K, Cailotto C, van der Vliet JW, van Harmelen V, Boeckxstaens G, Berbée JFP, Rensen PCN. Splenic autonomic denervation enhances inflammation does not aggravate atherosclerotic lesion development in APOE*3-Leiden.CETP transgenic mice **Am J Physiol Heart Circ Physiol** **2015**; 309: H646-654.
[* Authors contributed equally]
9. van Dam AD, Nahon KJ, [Kooijman S](#), van den Berg SM, Kanhai AA, Kikuchi T, Heemskerk MM, van Harmelen V, Lombès M, van den Hoek AM, de Winther MP, Lutgens E, Guigas B, Rensen PCN, Boon MR. Salsalate activates brown adipose tissue in mice. **Diabetes** **2015**; 64:1544-54
10. Berbée JFP, Boon MR, Khedoe PPSJ, Bartelt A, Schlein C, Worthmann A, [Kooijman S](#), Hoeke G, Mol IM, John C, Jung C, Vazirpanah N, Brouwers LP, Gordts PL, Esko JD, Hiemstra PS, Havekes LM, Scheja L, Heeren J, Rensen PCN. Brown fat activation reduces hypercholesterolemia and protects from atherosclerosis development. **Nat Commun** **2015**; 6: 6356

11. [Kooijman S*](#), van den Berg R*, Ramkisoensing A, Boon MR, Kuipers EN, Loef M, Zonneveld TC, Lucassen EA, Sips HCM, Chatzisprou IA, Houtkooper RH, Meijer JH, Coomans CP, Biermasz NR, Rensen PCN. Prolonged daily light exposure increases body fat mass through attenuation of brown adipose tissue activity. **Proc Natl Acad Sci USA** **2015**; 112:6748-6753
[* Authors contributed equally]
12. Rozema E, van Dam AD, Sips HCM, Verpoorte R, Meijer OC, Choi YH*, [Kooijman S*](#). Extending pharmacological dose-response curves for salsalate with natural deep eutectic solvents. **RSC Adv** **2015**; 5:61398-61401
[* Authors contributed equally]
13. Van Dam AD, [Kooijman S](#), Schilperoort M, Rensen PCN, Boon MR. Regulation of brown adipose tissue activity by AMP-activated protein kinase. **Trend Mol Med** **2015**; *in press*
14. Hoeke G, [Kooijman S](#), Boon MR, Rensen PCN, Berbée JFP. Role of brown fat in lipoprotein metabolism and atherosclerosis. **Circ Res** **2015**; *in press*
15. Coomans CP, Lucassen E, [Kooijman S](#), Fifel K, de Boer T, Rensen PCN, Michel S, Meijer JH. Plasticity of circadian clocks and consequences for metabolism. **Diabetes Obes Metab** **2015**; 14 Suppl 1:65-75
16. [Kooijman S*](#), Wang Y*, Parlevliet ET*, Boon MR, Edelschaap D, Snaterse G, Romijn JA, Rensen PCN. Central GLP-1 receptor signalling increases the uptake of plasma triglycerides and glucose by activated brown adipose tissue in mice. **Diabetologia** **2015**; *in press*
[* Authors contributed equally]
17. Van Beek L, Vroegrijk IOCM, Katiraei S, Heemskerk MM, van Dam AD, [Kooijman S](#), Rensen PCN, Koning F, Verbeek JS, Willems van Dijk K, van Harmelen V. Fcy-chain deficiency restricts the development of diet-induced obesity. **Obesity** **2015**; *in press*
18. [Kooijman S](#), van den Heuvel JK, Rensen PCN. Hypothalamic regulation of brown fat activity. **Trends Endocrinol Metab** **2015**; *in press*
19. Laurila P-P, Soronen J, [Kooijman S](#), Boon MR, Forsström S, van den Berg SAA, Coomans CP, Kaiharju E, -, Rensen PCN, Kovanen P, Suomalainen A, Jauhainen M. Deficiency of *Usf1* Protects against obesity, insulin resistance, dyslipidemia, and atherosclerosis, and leads to increased energy expenditure and brown adipose tissue activity in mice; *revision submitted*

CURRICULUM VITAE

Sander Kooijman werd op 10 januari 1987 geboren te 's-Gravenhage. In 2005 behaalde hij zijn VWO diploma aan het Erasmus College te Zoetermeer. In dat zelfde jaar begon hij met de studie Biomedische Wetenschappen aan de Universiteit Leiden, waarvan hij in 2009 het Bachelor of Science diploma behaalde. Direct aansluitend begon hij met de masteropleiding Biomedical Science, eveneens aan de Universiteit Leiden.

In het kader van zijn masteropleiding heeft Sander twee onderzoekstages gevolgd. De eerste stage werd uitgevoerd bij de afdeling Moleculaire Cel Biologie. Onder begeleiding van Dr. Valentijn werd de manier waarop het stollingseiwit von Willebrand factor uit endotheelcellen wordt uitgescheiden onderzocht. De tweede stage werd uitgevoerd bij de afdeling Medische Microbiologie onder begeleiding van Dr. Feltkamp. Hier was hij betrokken bij onderzoek naar een recent ontdekt polyomavirus.

In 2011 behaalde hij aan de Universiteit Leiden het Master of Science diploma Biomedical Sciences. Van augustus 2011 tot augustus 2015 voerde hij als onderzoeker in opleiding onder supervisie van Prof. dr. Patrick C.N. Rensen en Prof. dr. ir. Louis M. Havekes het in dit proefschrift beschreven onderzoek uit bij de sectie Endocrinologie van de Hoofdafdeling Interne Geneeskunde van het Leids Universitair Medisch Centrum. Sinds augustus 2015 is hij aangesteld als post-doctoraal onderzoeker binnen dezelfde vakgroep als waar het promotieonderzoek is uitgevoerd.

