



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Pathogenesis of type 2 diabetes and cardiovascular disease in South Asians: effects of dietary interventions on metabolism and cardiovascular function

Bakker, L.E.H.

Citation

Bakker, L. E. H. (2015, February 18). *Pathogenesis of type 2 diabetes and cardiovascular disease in South Asians: effects of dietary interventions on metabolism and cardiovascular function*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/32019>

Version: Corrected Publisher's Version

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/32019>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/30242> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Bakker, Leontine E.H.

Title: Pathogenesis of type 2 diabetes and cardiovascular disease in South Asians : effects of dietary interventions on metabolism and cardiovascular function

Issue Date: 2015-02-18

13

Nederlandse samenvatting



DEEL 1: TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN ZUID AZIATEN

Bij diabetes (suikerziekte) kan het lichaam de bloedsuiker niet meer regelen. Normaal regelt het lichaam de bloedsuikerspiegel heel precies met het hormoon insuline. Insuline wordt gemaakt en uitgescheiden door de alvleesklier. Het zorgt ervoor dat glucose uit het bloed wordt opgenomen door onder meer de skeletspieren en het vetweefsel, en het remt de glucoseproductie door de lever. Tegelijkertijd remt insuline ook de afbraak van vet. Mensen met diabetes maken zelf geen insuline meer, of hun lichaam reageert niet meer op de insuline, afhankelijk van het type diabetes (type 1 of 2). Bij type 2 diabetes is het lichaam minder gevoelig voor insuline (insulineresistentie). Eerst maakt de alvleesklier nog extra insuline aan om te compenseren voor de verminderde insulinegevoeligheid, maar na verloop van tijd wordt dit steeds minder en stijgt de bloedsuikerspiegel; men spreekt dan van diabetes. Diabetes kan nadelige gevolgen hebben in het hele lichaam. Veel voorkomende complicaties van diabetes zijn hart- en vaatziekten, achteruitgang van de nierfunctie en ogen, en zenuw schade.

Diabetes is één van de meest voorkomende chronische aandoeningen wereldwijd en neemt nog steeds toe in aantal. Opvallend is dat er sterke geografische variatie is in het voorkomen van type 2 diabetes, waarschijnlijk ten gevolge van genetische, gedrags, en omgevingsfactoren. Dit geldt onder meer voor mensen van Zuid Aziatische afkomst, bij wie sprake is van een snelle toename in het voorkomen van type 2 diabetes. Zuid Aziaten komen oorspronkelijk van het Indiase subcontinent – India, Pakistan, Bangladesh, Nepal en Sri Lanka – en vertegenwoordigen één vijfde van de wereldbevolking. Het risico is verhoogd voor zowel Zuid Aziaten die zijn blijven wonen op het Indiase subcontinent als voor Zuid Aziaten die geëmigreerd zijn, zoals de Hindostaanse bevolkingsgroep in Nederland. In 2008 had 26.7% (age-standardized prevalence) van de Hindostanen diabetes in vergelijking tot 5.5% van de blanke autochtone Nederlanders en tot 10% wereldwijd. Niet alleen komt type 2 diabetes 4 tot 6 keer vaker voor in Zuid Aziaten, het treedt ook op jongere leeftijd (ongeveer 10 jaar eerder) op en bij een lagere body mass index (BMI) in vergelijking tot blanke mensen van Kaukasische afkomst. Bovendien ontwikkelen ze eerder en ernstiger complicaties.

De snelle toename van type 2 diabetes wereldwijd is geassocieerd met een Westerse levensstijl (calorierijk eten, weinig lichaamsbeweging). Zuid Aziaten lijken echter een uitzonderlijk hoog risico te hebben voor het ontwikkelen van diabetes bij eenzelfde levensstijl in vergelijking tot andere bevolkingsgroepen. Hoewel bepaalde risicofactoren zoals een zittende levensstijl en ongezond dieet zeker van toepassing zijn voor Zuid Aziaten, mede het gevolg van de snelle ontwikkelingen in Zuid Aziatische landen in de afgelopen decennia, kunnen zij niet volledig het hoge risico verklaren en hebben genetische invloeden waarschijnlijk ook een belangrijke rol.

De hoge prevalentie van diabetes in de Zuid Aziatische populatie vormt wereldwijd een belangrijk gezondheids- en sociaaleconomisch probleem. Een verklaring voor het hoge risico is echter nog onduidelijk. In dit proefschrift worden studies beschreven gericht op het verkrijgen van meer inzicht in de pathogenese van type 2 diabetes in Zuid Aziaten en om zo nieuwe aanknopingspunten te vinden voor het ontwikkelen van preventieve maatregelen en behandelopties van diabetes in deze populatie. Hiertoe werden jonge (18 tot 25 jaar) gezonde slanke mannen en oudere (40 tot 50 jaar) mannen met overgewicht (BMI 25 tot 30 kg/m²) onderzocht. De Zuid Aziatische proefpersonen die deel hebben genomen aan deze studies zijn Nederlandse Hindostanen. Deze groep komt oorspronkelijk uit Noord-India. Na het afschaffen van de slavernij in 1862 in de Nederlandse koloniën, zoals Suriname, mochten de Nederlanders van de Britten in 1873 werknemers rekruteren in Noord-India voor Suriname. Vlak voor en vlak na de onafhankelijkheid van Suriname in 1975 zijn veel Hindostanen gemigreerd naar Nederland. In 2010 woonden er circa 123.000 – 147.000 Hindostanen in Nederland; de grootste groep woont in Den Haag (circa 45.000). Blanke autochtone Nederlanders vormen de controle-groep van de studies beschreven in dit proefschrift.

Hoofdstuk 2 is een review over studies die onderzocht hebben waarom mensen van Zuid Aziatische afkomst een verhoogd risico hebben op het ontwikkelen van type 2 diabetes in vergelijking tot mensen van blanke Kaukasische afkomst. Het voornaamste mechanisme in Zuid Aziaten lijkt insulineresistentie te zijn. Deze insulineresistentie is meest waarschijnlijk het gevolg van een interactie tussen genen en omgeving. Zuid Aziaten hebben een opmerkelijk ongunstig metabool fenotype: ze worden relatief klein geboren en hebben al bij de geboorte hoge insulineaarden en een ongunstige lichaamsbouw (het zogenaamde 'thin-fat-phenotype': dunne armen en benen (dat wil zeggen weinig spiermassa), en relatief veel vet aan de romp, zowel rondom de organen, zogenaamd visceraal vet, als onderhuids). Dit uit zich ook in een hoger vetpercentage bij een vergelijkbare BMI. Bovendien is hun vetweefsel dysfunctioneel: er is minder opslagvermogen voor vetten en een gestoorde uitscheiding van vrije vetzuren, adipokinen en pro-inflammatoire ('pro ontsteking') cytokinen waardoor er continu sprake is van een laaggradige ontsteking. Dit leidt tot opslag van vet elders (in de lever, spier; ook wel ectopisch vet genoemd), verstoring van de insuline signaalroute en toename van insulineresistentie. Enkele studies tonen een gestoorde functie van het endotheel (de binnenbekleding van bloedvaten) leidend tot onvoldoende vaatverwijding en verminderde afgifte van insuline aan de weefsels. Dysfunctie van het HDL-cholesterol zou mogelijk ook een rol kunnen spelen. Verschillen in dieetgewoonten lijken geen belangrijke rol te spelen in het verhoogde risico. Wel lijken het dagelijks minder bewegen en hun lagere cardiorespiratoir uithoudingsvermogen bij te dragen aan het frequente voorkomen van insulineresistentie.

Dit literatuuroverzicht maakt echter ook duidelijk dat er maar weinig studies gedaan zijn bij Zuid Aziaten op weefselniveau, en dat een verklaring voor hun ongunstige metabole fenotype nog niet opgehelderd is.

In **Hoofdstuk 3** wordt een onderzoek beschreven dat ingaat op de bij herhaling gevonden hoge insulineaarden na een orale glucosebelasting in Zuid Aziaten vergeleken met blanke Kaukasiërs. Deze hogere insulineaarden worden gezien als een compensatoir mechanisme voor insulineresistentie om normale glucosewaarden te behouden. De hoge waarden kunnen het gevolg zijn van een verminderde klaring van insuline uit het bloed, of door een verhoogde uitscheiding van insuline door de alvleesklier. In deze studie is onderzocht of de verhoogde insulineaarden het gevolg zijn van een verhoogde respons van GLP-1. GLP-1 is een hormoon dat door de darm uitgescheiden wordt in reactie op eten, en dat de uitscheiding van insuline stimuleert. Verder waren we geïnteresseerd of de hoge insulineaarden een reactieve hypoglykemie (lage bloedsuikerspiegel) veroorzaken, gekenmerkt door een daling in de bloedsuikerspiegel (≤ 3 mmol/L) 4 tot 6 uur na de glucosebelasting; dit wordt gezien als een teken van beginnende diabetes. Hiertoe ondergingen 8 jonge, gezonde Zuid Aziatische mannen en 10 blanke Kaukasische mannen een 6-uur durende orale glucose belastingstest (OGTT). De Zuid Aziatische proefpersonen waren meer insulineresistent en hadden hogere insulineaarden conform andere studies. De hoge insulineaarden gingen vergezeld met verhoogde waarden van GLP-1. De piek GLP-1 waarden gingen vooraf aan de piek insulineaarden, dit suggereert een direct verband tussen de verhoogde GLP-1 respons en insuline afscheiding door de alvleesklier. Aanvullend onderzoek is echter nodig om te bepalen of de verhoogde GLP-1 concentraties inderdaad de oorzaak zijn van de verhoogde insulineaarden, of dat deze hoge GLP-1 waarden een uiting zijn van ongevoeligheid voor GLP-1. Er was verder geen sprake van reactieve hypoglykemie.

Het belangrijkste orgaan dat glucose onder invloed van insuline opneemt uit het bloed is de skeletspier (75-80%). In de spier wordt de glucose vervolgens ofwel verbrand tot energie (oxidatieve glucose stofwisseling (Rd)) ofwel opgeslagen als glycogeen (niet-oxidatieve glucose verwijdering (NOGD)). Deze processen lopen via de zogenaamde 'insuline signaalroute' (insulin signaling pathway). Bij mensen met diabetes lijkt het belangrijkste probleem in de skeletspier de NOGD te zijn. Opvallend genoeg zijn bij Zuid Aziaten slechts twee onderzoeken gedaan op weefselniveau, waarvan in één de insuline signaalroute onderzocht is.

Gezien het hoge risico van Zuid Aziaten om diabetes te ontwikkelen bij eenzelfde levensstijl in vergelijking tot andere bevolkingsgroepen, zou een verklaring voor hun predispositie ook gelegen kunnen zijn in een verschillende regulatie van 'energie/nutriënt-gevoelige routes' in metabole weefsels wat effect kan hebben op de gehele

stofwisseling. Een belangrijke signaalroute hierbij is de mTOR route. mTOR is een eiwit dat aan de hand van beschikbaarheid van voedingsstoffen en energieniveau van de cel de celgroei reguleert. mTOR reageert op insuline en andere groeifactoren, stress, zuurstof en niveau van voedingsstoffen. Het bevordert de eiwitaanmaak, celgroei en -differentiatie, en kan de insuline signaalroute remmen. Verder lijkt het ook een cruciale rol te spelen in de mitochondriële biogenese en oxidatieve stofwisseling.

In de **Hoofdstukken 4 en 5** zijn deze signaalroutes onderzocht in jong volwassen en volwassen proefpersonen voor en na een dieet.

INTERMEZZO: UITLEG ONDERZOEKSMETHODEN

In dit proefschrift is gebruik gemaakt van diverse onderzoekstechnieken.

2-staps hyperinsulinemische-euglycemische clamp. Met deze test kan de gevoeligheid van weefsels voor insuline worden bepaald. De proefpersoon krijgt zowel insuline als glucose toegediend. Onder invloed van insuline wordt glucose uit het bloed opgenomen door met name de spieren; hierdoor gaat de bloedglucosewaarde omLaag. Hoe meer glucose men iemand moet toedienen om de bloedglucosespiegel stabiel te houden hoe gevoeliger de spier is voor insuline (perifere insulinegevoeligheid, R_d). De lever produceert zelf ook glucose (endogene of hepatische glucoseproductie, EGP). Om onderscheid te kunnen maken tussen het door lever geproduceerde glucose en het toegediende glucose wordt gelabelde glucose toegediend (glucose gelabeld met 2 waterstofatomen, de stabiele isotoop deuterium). Hiermee kun je de gevoeligheid van de lever voor insuline bepalen (hoe gevoeliger hoe minder glucoseproductie). De test bestaat uit 2 stappen, een lage insuline stap waarin met name de lever insulinegevoeligheid goed te meten is, en een hoge insuline stap waarin juist de perifere insulinegevoeligheid (met name spier; R_d) goed te meten is.

Spierbiopsie. Met een holle naald wordt onder lokale verdoving een biopsie afgenomen uit skeletspierweefsel (uit het bovenbeen), zowel voor als na het dieet, en voor en tijdens de clamp; tijdens de clamp kan dan het effect van insuline op de insulinegevoelige signaalroutes in spier worden bestudeerd. In het spierweefsel wordt gekeken naar eiwitexpressie (door middel van Western Blot) en genexpressie (door middel van qPCR) van eiwitten betrokken in diverse signaalroutes.

Indirecte calorimetrie. Vlak voor en tijdens de clamp ondergingen de proefpersonen een geventileerde kapmeting (indirecte calorimetrie). Tijdens deze meting krijgt de proefpersoon een geventileerde doorzichtige kap over zijn hoofd waarin het zuurstofgehalte (O_2) en koolzuurgasgehalte (CO_2) in de in- en uitademingslucht wordt gemeten en met elkaar wordt vergeleken. Hieruit kan men bepalen wat iemands energiegebruik is in rust (resting energy expenditure, REE), en hoeveel koolhydraten, vetten en eiwitten iemand verbrandt. Insuline remt de vetverbranding en stimuleert de glucoseverbranding. Tijdens de clamp waarbij insuline wordt toegediend verwacht men dus een afname van de vetverbranding en een toename van de glucoseverbranding. Hoe resistenter iemand is voor insuline, hoe minder sterk dit effect zal zijn. Bij caloriebeperking gaat het lichaam over op vetverbranding om glucose te sparen voor de glucoseafhankelijke weefsels (de hersenen en

rode bloedcellen). Na het dieet verwacht men daarom in de niet-insuline-gestimuleerde toestand een toename van de vetverbranding en een afname van de glucoseverbranding. Het effect van insuline zal in principe sterker zijn door toegenomen insulinegevoeligheid. Het vermogen om de vetverbranding te verhogen na caloriebeperking en om te switchen van vet- naar glucoseverbranding tijdens insulinetoediening wordt metabole flexibiliteit genoemd.

MRI/MRS. Voorafgaand aan en 1 dag na het dieet werd een MRI (magnetic resonance imaging) en spectroscopie (MRS) verricht. Hiermee is gekeken naar de hartfunctie, het hartvet (myocardial triglyceride content), levervet (hepatic triglyceride content, HTG), buikvetverdeling en de stijfheid van de aorta (pulse wave velocity, PWV).

¹⁸F-FDG-PET-CT scan. Voor de bruin vet studie (Hoofdstuk 7) is gebruik gemaakt van een ¹⁸F-FDG-PET-CT scan. Een ¹⁸F-FDG PET-onderzoek (positron emissie tomografie) geeft informatie over de glucosestofwisseling in weefsels die glucose opnemen, zoals bruin vet. Een PET-camera kan glucose in beeld brengen wanneer het radioactief is gemerkt (¹⁸F-FDG). De PET-scan wordt gecombineerd met een CT-scan om de glucoseopname nauwkeurig te kunnen lokaliseren. Om de detectiekans van bruin vet te vergroten op de PET-CT scan wordt een koelprocedure toegepast; bruin vet wordt immers geactiveerd door kou. Tijdens het koelen met speciale koelmatten wordt de proefpersoon gedurende circa 3 uur blootgesteld aan milde kou (± 16 °C). Het doel is om het bruine vet maximaal te activeren zonder dat de proefpersoon gaat rillen.

Hoofdstuk 4 vergelijkt de metabole aanpassing aan een 5-dagen hoog-vet-hoog-calorisch dieet (HFHCD, eigen dieet plus 375 mL slagroom per dag (= 1275 kcal per dag extra bestaande uit 94% vet)) in de jonge groep. Het bleek dat een 5-dagen HFHCD al voldoende is om de perifere insulinegevoeligheid te verminderen in Zuid Aziaten, terwijl er geen effect te zien was in de blanke controles. Deze afname in insulinegevoeligheid was voornamelijk het gevolg van een afname in NOGD wat een defect in de glycogeenopslag suggereert. Er werden echter geen duidelijke verschillen tussen de groepen gevonden in de expressie van eiwitten en genen betrokken in glycogeenafbraak en -opslag. Op het niveau van de skeletspier werden verder ook geen significante verschillen gezien tussen de groepen in mTOR en insuline signalering, en ook niet in de expressie van metabole genen en mitochondriële functie (mitochondria zijn de energiecentrales van de cel). Verder waren levervet en buikvetverdeling niet verschillend tussen Zuid Aziaten en blanke controles. Wel was sprake van een lagere insuline klaringsnelheid en lever insulinegevoeligheid in Zuid Aziaten, zowel voor als na het dieet.

Redenen waarom geen duidelijke verschillen werden gevonden op weefselniveau kunnen de relatief goede gezondheid van de proefpersonen en/of de kleine groeps-grootte zijn. Verder kan niet worden uitgesloten dat het witte vetweefsel bijgedragen heeft aan de afname in perifere insulinegevoeligheid in Zuid Aziaten. Ongeveer 10-20% van de insulinegestimuleerde glucoseopname treedt namelijk op in wit vetweefsel.

Concluderend gaf een HFHCD snel insulineresistentie in jonge gezonde slanke Zuid Aziatische proefpersonen. Dit suggereert dat de vatbaarheid van Zuid Aziaten voor het ontwikkelen van type 2 diabetes deels verklaard kan worden door de manier waarop ze zich aanpassen aan een Westers vetrijk dieet. De mTOR route in skeletspierweefsel lijkt daarbij nog geen rol te hebben.

Hoofdstuk 5 bestudeert het effect van caloriebeperking door middel van een 8-dagen zeer-laag-calorisch-dieet (VLCD, ~450 kcal per dag) op energie/nutriënt-gevoelige signaalroutes in skeletspierweefsel in de oudere groep. Voorafgaand aan het dieet waren de Zuid Aziaten meer insulineresistent dan de blanke controles: ze hadden hogere insulineaarden zowel in nuchtere toestand als tijdens orale glucosebelasting, en een lagere lever en perifere insulinegevoeligheid. Verder was de insuline klaringsnelheid lager en het levervet hoger in de Zuid Aziatische proefpersonen. Opslag van vet in de lever is geassocieerd met insulineresistentie van de lever. De lagere perifere insulinegevoeligheid in Zuid Aziaten leek het gevolg te zijn van een verminderde NOGD. Dit suggereert een defect in glycogeenopslag, één van de belangrijkste problemen in patiënten met type 2 diabetes. Er werden echter geen verschillen tussen de groepen gevonden in de expressie van eiwitten en genen betrokken bij glycogeenafbraak en -opslag, zoals eerder ook in de jonge groep was gezien (**Hoofdstuk 4**). Verder werden voorafgaand aan het dieet geen verschillen gevonden in insuline en mTOR signalering, en was de verbranding van koolhydraten en vetten en de metabole flexibiliteit vergelijkbaar.

De Zuid Aziatische proefpersonen reageerden echter metabool anders op het VLCD dan de blanke controles. In beide groepen namen lever- en buikvet af en verbeterde de insulinegevoeligheid van de lever. De blanke controles waren metabool flexibel: ze schakten van glucose naar vetverbranding in de nuchtere toestand en lieten een versterkt insuline effect zien op de glucose- en vetverbranding. In de Zuid Aziatische groep was deze switch echter gestoord na het dieet, zowel in de nuchtere toestand als tijdens de clamp, en was derhalve sprake van metabole inflexibiliteit. Verder werd in de blanke groep geen dieeteffect gezien op de perifere insulinegevoeligheid, overeenkomend met andere kortdurende studies met caloriebeperking en minimaal gewichtsverlies. In de Zuid Aziaten werd juist een lichte verbetering gezien in de perifere insulinegevoeligheid ondanks een afname in insulineaarden, voornamelijk door een toename in NOGD. Op spierniveau bleken energie/nutriënt-gevoelige signaalroutes anders aangedaan, met een toename in insuline geïnduceerde activatie van de mTOR (ERK-mTOR-S6K1) signaalroute in Zuid Aziaten.

Er is steeds meer bewijs dat mTOR de vetzuurverbranding kan onderdrukken door het remmen van PPAR α , een transcriptiefactor. PPAR α regelt de transcriptie van genen betrokken in onder meer de opname van vetzuren in de cel en mitochondria en vetzuurverbranding. Inderdaad bleek mRNA expressie van PPARA en enkele doelgenen van

PPARA alleen in Zuid Aziaten significant afgenomen te zijn. Het is dus mogelijk dat de activatie van de mTOR signaalroute in Zuid Aziaten in reactie op caloriebeperking de vetzuurverbranding heeft onderdrukt door het remmende effect van mTOR op PPAR α , leidend tot metabole inflexibiliteit.

Een opvallende bevinding was de toegenomen perifere insulinegevoeligheid in Zuid Aziaten, terwijl mTOR hierop juist een remmend effect zou hebben. De toename in perifere insulinegevoeligheid lijkt met name verklaard te worden door een toegenomen NOGD, hoewel er wederom geen verschillen in het glycoleenmetabolisme gevonden werden. Interessant in dit opzicht is dat alleen in de Zuid Aziatische proefpersonen de expressie van AMPK significant toenam na het dieet. AMPK activatie bevordert de glucoseopname in de spier en zou daarom onderliggend kunnen zijn aan de verbeterde NOGD in Zuid Aziaten.

Concluderend reageerden volwassen Zuid Aziatische mannen met overgewicht metabool anders op kortdurende caloriebeperking in vergelijking tot blanke mannen van Kaukasische afkomst. Hoewel de perifere insulinegevoeligheid toenam, was de metabole flexibiliteit gestoord. Dit ging gepaard met een toename in insuline geïnduceerde activatie van de ERK-mTOR-S6K1 signaalroute op spierniveau.

Bruin vet is een recent ontdekte speler in de energie stofwisseling van mensen. **Hoofdstuk 6** geeft een overzicht over de anatomie, fysiologie en functie van bruin vet en beschrijft hoe bruin vet gemanipuleerd zou kunnen worden om het energiegebruik te verhogen en daarmee mogelijk gewichtsverlies te induceren. In tegenstelling tot het witte vet neemt bruin vet glucose en vetten op uit het bloed en verbrandt deze vervolgens tot warmte. Dit mechanisme draagt in baby's bij aan het handhaven van hun lichaamstemperatuur. De hoeveelheid bruin vet neemt in mensen echter snel af na de peutertijd. In 2009 is met een speciale scantechniek (^{18}F -FDG PET-CT scan) echter ontdekt dat volwassen mensen nog functioneel bruin vet hebben. Kou activeert bruin vet; de beste detectiekans heb je daarom door voorafgaand aan het toedienen van het FDG de proefpersoon te koelen. Bruin vet kan in belangrijke mate bijdragen aan het energiegebruik (tot 15-20% van het totale dagelijkse energiegebruik). Een interessante bevinding is dat mensen met overgewicht minder bruin vet lijken te hebben. Verder resulteren bepaalde aandoeningen die leiden tot activatie van bruin vet, zoals een snelle schildklierfunctie en een feochromocytoom (een neuroendocriene (bijnier)tumor dat teveel stresshormonen aanmaakt), tot een verhoogd energiegebruik en gewichtsverlies. Het stimuleren van bruin vet wordt daarom gezien als een mogelijk preventief en therapeutisch doel in onze strijd tegen overgewicht en aan overgewicht gerelateerde ziekten, zoals type 2 diabetes. Verschillende methoden waarop bruin vet gemanipuleerd kan worden zijn geïdentificeerd met wisselend succes, zoals het stimuleren van aanwezig bruin vet door stimulatie van het sympathisch zenuwstelsel, via blootstelling aan kou

en bepaalde medicamenten, en het rekruteren van bruin vet door het stimuleren van de differentiatie van vetcellen naar bruine vetcellen.

Aangezien bruin vet betrokken is in het totale energiegebruik en de klaring van vetten en glucose en daarmee beschermt tegen metabole verstoringen, was onze hypothese dat een laag bruin vet volume of activiteit onderliggend zou kunnen zijn aan het ongunstige metabole fenotype van Zuid Aziaten (overgewicht, gestoorde vetbalans, insulineresistentie) en aan hun vatbaarheid voor diabetes. In **Hoofdstuk 7** is daarom zowel het rust energiegebruik (REE) als het volume en de activiteit van bruin vet onderzocht in de jonge groep met behulp van de geventileerde kapmeting en koudegeïnduceerde ¹⁸F-FDG-PET-CT-scans. REE was 32% lager in de Zuid Aziatische proefpersonen. Bovendien lag de temperatuur waarop het rillen begon hoger in deze groep ondanks een hoger totaal vetpercentage, en de koude geïnduceerde 'non-shivering' thermogenese (warmteproductie niet door spieractiviteit (rillen)) was kleiner. Het bruin vet volume was aanzienlijk lager in de Zuid Aziatische groep (34%), terwijl er geen verschil was in de activiteit. Een verklaring voor het lagere bruin vet volume in Zuid Aziaten zou genetisch kunnen zijn (verminderde expressie van signaalmoleculen betrokken bij de differentiatie van bruin vet), en/of omgeving gerelateerd (kleedgedrag, instelling centrale verwarming, en/of eetpatroon). Concluderend zou een laag bruin vet volume onderliggend kunnen zijn aan het hoge risico van Zuid Aziaten tot het ontwikkelen van metabole aandoeningen als obesitas en type 2 diabetes. Het vergroten van het volume of activiteit van bruin vet zou daarom een belangrijk therapeutisch aangrijpingspunt kunnen zijn, mogelijk leidend tot een verhoogde klaring van glucose en vetten en een verhoogd totaal energiegebruik.

DEEL 2: HART- EN VAATZIEKTEN IN ZUID AZIATEN

Hart- en vaatziekten komen veel voor in de algemene bevolking en zijn wereldwijd een belangrijke doodsoorzaak. Onder hart- en vaatziekten vallen hartinfarct, herseninfarct of beroerte, en perifere vaatlijden (bijv. 'etalagebenen'). De belangrijkste oorzaak is atherosclerose (aderverkalking), wat vaak al vele jaren aanwezig is voordat symptomen optreden. Belangrijke oorzaken van atherosclerose zijn leefstijlfactoren zoals roken, ongezonde voeding en te weinig beweging, stress, overgewicht, ongunstig vetprofiel (hoog LDL, laag HDL, hoog triglyceridgehalte), verhoogde bloeddruk (hypertensie) en diabetes. Daarnaast spelen ook erfelijke factoren een rol bij het ontstaan van hart- en vaatziekten.

Net als voor diabetes hebben mensen van Zuid Aziatische afkomst een verhoogd risico op het ontwikkelen van hart- en vaatziekten in vergelijking tot blanke Kaukasische mensen. Zuid Aziatische mensen krijgen eerder een hartinfarct (circa 5 jaar), kennen

een agressiever beloop en hoger overlijdensrisico op jongere leeftijd. Het hoge risico op hart- en vaatziekten in Zuid Aziaten komt waarschijnlijk door een wisselwerking tussen genetische gevoeligheid en omgevingsfactoren. In dit proefschrift worden studies beschreven gericht op het verkrijgen van meer inzicht in de pathogenese van hart- en vaatziekten in Zuid Aziaten en om zo nieuwe aanknopingspunten te vinden voor het ontwikkelen van preventieve maatregelen en behandelopties in deze populatie. Hiertoe werden dezelfde proefpersonen onderzocht als eerder beschreven onder Type 2 diabetes.

In **Hoofdstuk 8** worden mogelijke factoren besproken die bij kunnen dragen aan het verhoogde cardiovasculaire risico van Zuid Aziaten evenals nieuwe therapeutische strategieën. De belangrijkste oorzaak van hart- en vaatziekten is atherosclerose (aderverkalking), wat al vele jaren aanwezig kan zijn voordat symptomen optreden. De ontwikkeling van atherosclerose wordt beïnvloed door zowel metabole als inflammatoire risicofactoren. Metabole of 'klassieke' risicofactoren zijn dyslipidemie (gestoord vetprofiel), abdominaal overgewicht (vet met name in de buik) en insulineresistentie. Inflammatoire of 'niet klassieke' risicofactoren zijn systemische ontsteking, HDL dysfunctie en endotheel dysfunctie. In Zuid Aziaten komen de klassieke risicofactoren veel voor. Een mogelijke bijdragende factor aan de ontwikkeling hiervan is een lager volume van bruin vet, resulterend in een afgenomen vetverbranding en glucoseopname. De klassieke factoren kunnen echter niet volledig het verhoogde risico verklaren. Andere, niet-klassieke risicofactoren moeten daarom aanwezig zijn. Inderdaad is de prevalentie van inflammatoire risicofactoren, waaronder ontsteking van het viscerale (orgaan) vetweefsel, endotheel dysfunctie en HDL dysfunctie hoger in de Zuid Aziatische populatie vergeleken met mensen van blanke Kaukasische afkomst. Concluderend zou het hoge risico op hart- en vaatziekten in Zuid Aziaten mogelijk verminderd kunnen worden door behandelmethoden gericht op het vergroten van het bruin vet volume of activiteit, daarmee de klassieke risicofactoren verminderend. Verder zou anti-inflammatoire therapie de niet-klassieke risicofactoren in deze bevolkingsgroep kunnen verlagen. Een combinatie van beide strategieën zal met name effectief zijn.

In de **hoofdstukken 9 en 10** zijn de cardiale dimensies, cardiovasculaire functie en het vetgehalte van de hartspier onderzocht middels MRI en spectroscopie. De mortaliteit van hart- en vaatziekten bij diabetes is hoger in Zuid Aziaten in vergelijking tot blanke Kaukasiërs. Dit suggereert een hogere cardiale vatbaarheid voor metabole verstoringen. Kortdurende dieetinterventies, zoals hoog vet belasting en caloriebeperking, kunnen gebruikt worden als een metabole stresstest voor het onderzoeken van de cardiovasculaire flexibiliteit.

In **Hoofdstuk 9** is onderzocht of de cardiale dimensies, cardiovasculaire functie en het vetgehalte van de hartspier op jonge leeftijd verschillen tussen Zuid Aziaten en blanke Nederlanders, met het idee dat dit bij zou kunnen dragen aan het verhoogde risico op hart- en vaatziekten in Zuid Aziaten. Verder is de respons op een 5-dagen HFHCD bekeken. Voorafgaand aan het dieet bleken de cardiale dimensies kleiner in Zuid Aziaten, ook na correctie voor hun kleinere lichaamspostuur. Verder werden er verschillen in diastolische en systolische cardiale functie gezien passend bij een langere cardiale relaxatie en contractie. Een 5-dagen HFHCD vergrootte deze verschillen niet, ondanks een significante toename in insulineaarden in Zuid Aziaten aangevend dat ze meer insulineresistent waren geworden. Tot slot was de pulse wave velocity (PWV) van de aorta hoger (dat wil zeggen een stijvere aorta) in Zuid Aziaten voorafgaand aan het dieet; dit normaliseerde na het dieet. De PWV van de aorta is een krachtige onafhankelijke voorspeller van cardiovasculaire complicaties. Verminderde insulinegevoeligheid en verhoogd LDL-cholesterol zouden causaal gerelateerd kunnen zijn aan de verschillende cardiale functieprofielen. Een andere mogelijkheid is dat de geobserveerde verschillen in cardiale dimensies en cardiovasculaire functie aangeboren zijn en simpelweg representatief zijn voor verschillende normale referentiewaarden in deze twee etnische groepen. Of de waargenomen verschillen bijdragen aan de hogere incidentie van hart- en vaatziekten in Zuid Aziaten moet nog worden vastgesteld. Ze kunnen in ieder geval niet verklaard worden door een verschillende metabole respons op een kortdurend hoog vet dieet, aangezien een 5-dagen HFHCD de waargenomen verschillen niet vergrootte ondanks duidelijke metabole effecten. Het is echter mogelijk dat een langer durend HFHCD nodig is om veranderingen teweeg te brengen.

In **Hoofdstuk 10** is onderzocht of de metabole en functionele cardiovasculaire flexibiliteit op caloriebeperking verschillend is tussen volwassen Zuid Aziaten en blanke Kaukasiërs. Eerdere studies in gezonde proefpersonen en mensen met overgewicht en diabetes met en zonder hart- en vaatziekten van blanke Kaukasische afkomst toonden een vergelijkbare metabole en functionele flexibiliteit van het hart aan in reactie op zowel kort- als langdurende caloriebeperking. Het is echter onbekend of caloriebeperking vergelijkbare effecten heeft in Zuid Aziaten. In deze studie werd daarom de volwassen groep onderzocht voor en na een 8-dagen VLCD. Voorafgaand aan het dieet bleken de cardiale dimensies kleiner ondanks correctie voor hun kleinere postuur, en was de PWV in de aorta hoger in Zuid Aziaten, conform onze bevindingen in de jonge groep. De hogere PWV zou toegeschreven kunnen worden aan de hogere insulineaarden. Langdurig verhoogde insulineaarden, zoals bij insulineresistentie en diabetes, kunnen de elastische functie van de aorta verminderen. Systolische en diastolische functie, vetgehalte in de hartspier en rondom het hart waren niet significant verschillend. Na het VLCD, steeg het vetgehalte in de hartspier in beide groepen met 69%. Hoewel een verhoogd myocardiaal vetgehalte bij insulineresistentie geassocieerd is met een ges-

toorde hartfunctie, is de toename van myocardiale vetopslag na een kortdurend VLCD een teken van behouden metabole flexibiliteit van het hart. Gezien het hoge risico op hart- en vaatziekten en diabetes in Zuid Aziaten was de hypothese dat de flexibiliteit van het hart afgenomen zou zijn in deze populatie. Het vetgehalte van het hart steeg echter in gelijke mate in beide groepen. Diastolische cardiale functie nam af na het dieet in beide groepen, conform eerdere studies, en kan waarschijnlijk verklaard worden door veranderingen in elastische eigenschappen van de linkerkamer. Daarentegen nam het pericardiale vet (vet rondom het hart) alleen in de Kaukasische groep significant af na het dieet, voornamelijk door een afname in de paracardiale vetlaag. Aangezien de paracardiale vetlaag een voorspeller is voor hart- en vaatziekten, geeft de afname in Kaukasiërs waarschijnlijk minder cardiovasculair risico. Verder nam alleen in de Kaukasische groep de PWV in een deel van de aorta af na het dieet. Dit suggereert dat de grote slagaderen minder flexibel zijn in Zuid Aziaten in respons op caloriebeperking. Dit kan het gevolg zijn van de, waarschijnlijk langdurig bestaande, hogere insulineaarden met irreversibele veranderingen in de arteriewand tot gevolg. Concluderend zijn de myocardiale vetopslag en diastolische hartfunctie van volwassen insulineresistente Zuid Aziaten net zo flexibel en ontvankelijk voor caloriebeperking als van gematchte, maar minder insulineresistente blanke Kaukasiërs. Daarentegen was sprake van een verschillend dieeteffect op het paracardiale vetvolume en de PWV ten gunste van Kaukasiërs.

Tot slot werd in **Hoofdstuk 11** de HDL functie vergeleken tussen Zuid Aziaten en blanke Kaukasiërs in pasgeborenen, de jonge groep en de volwassen groep.

De belangrijkste oorzaak van hart- en vaatziekten is atherosclerose (aderverkalking). Atherosclerose ontstaat door een continue afzetting van vetten en cholesterol in de binnenwand van slagaders (juist onder het endotheel). De ontwikkeling ervan start al vele jaren voordat er symptomen ontstaan en begint met schade en dysfunctie van de binnenwand van slagaders (het endotheel), bijvoorbeeld door een te hoge bloeddruk, waardoor er ontstekingscellen worden aangetrokken naar de plekken met endotheel-schade. Een te hoog LDL-cholesterol (het 'slechte' cholesterol) is een belangrijke factor die het risico op aderverkalking verhoogt. LDL kan geoxideerd raken en op den duur door de vaatwand heen dringen en vervolgens ter plekke neerslaan. Deze geoxideerde LDL-deeltjes worden opgeruimd door macrofagen, een bepaald type ontstekingscel, met gevolg dat deze cellen gaan schuimen. De schuimcellen hopen zich op in de vaatwand en vormen uiteindelijk een vetophoping (een plaque). Dit trekt weer ontstekingscellen aan wat de ontwikkeling van atherosclerose verder in stand houdt. De plaque kan verder groeien en zo vernauwing van het bloedvat veroorzaken met belemmering van de bloedstroom tot gevolg. Ook kan er een hard kapje (fibreuze kap) over de plaque gevormd worden als een soort bescherming. Echter, als de plaque blijft groeien kan het kapje scheuren, waardoor er een bloedstolsel gevormd wordt met mogelijk complete

blokkade van het bloedvat tot gevolg. Hierdoor krijgt het weefsel achter de blokkade geen zuurstof meer met tot gevolg dat dit weefsel afsterft (infarct).

Dysfunctie van HDL (het 'goede' cholesterol) is geassocieerd met hart- en vaatziekten. De cardiovasculaire beschermende effecten van HDL worden toegeschreven aan enkele anti-atherogene eigenschappen, waaronder 1) het voorkomen van LDL oxidatie, een belangrijke stap in het begin en de progressie van atherosclerose, 2) anti-inflammatoire eigenschappen, 3) stimulatie van cholesterol efflux uit macrofaag schuimcellen in atherosclerotische plaques naar de lever met uiteindelijk uitscheiding van cholesterol in gal, en 4) het induceren van vaatverwijding door stimulatie van NO (stikstof oxide) afgifte door endotheelcellen, waardoor er minder spanning staat op de vaatwand en daardoor minder ontwikkeling van atherosclerose.

Interessant is dat meerdere studies bij herhaling lagere HDL-cholesterol waarden hebben gevonden in Zuid Aziaten in vergelijking tot mensen van blanke Kaukasische afkomst. Een bijdragende factor aan het hoge risico op hart- en vaatziekten in Zuid Aziaten zou daarom een lage concentratie en/of dysfunctie van HDL kunnen zijn. Deze studie onderzocht de HDL functionaliteit met betrekking tot cholesterol efflux, anti-oxidatie en anti-inflammatie in bloedmonsters van de eerder genoemde groepen. Aangezien de HDL functie beïnvloed kan worden door dieetinterventie werd ook het effect van kortdurende dieetinterventie op de HDL functie onderzocht (5-dagen HFHCD in de jonge groep, 8-dagen VLCD in de volwassen groep).

Deze studie toont aan dat het vermogen van HDL om oxidatie van LDL te voorkomen gestoord was in volwassen Zuid Aziaten. Op jongere leeftijd is deze functie nog vergelijkbaar. Een verklaring voor deze verslechtering zouden exogene factoren kunnen zijn, zoals insulineresistentie en diabetes. Beide zijn geassocieerd met een afname in HDL-cholesterol waarden, veranderde HDL samenstelling en gestoorde HDL functie. Interessant is dat een gestoord anti-oxidatief vermogen van HDL andersom ook lijkt bij te dragen aan het verhoogde risico op diabetes en diabetes gerelateerde complicaties in Zuid Aziaten.

Het anti-inflammatoire vermogen van HDL was aanzienlijk lager in pasgeboren Zuid Aziaten. Dit verschil was niet aanwezig in de jonge en volwassen groep, suggererend dat tijdens de ontwikkeling de verminderde anti-inflammatoire functie zich herstelt. Echter, er is dan waarschijnlijk al wel een basis voor atherosclerose en het daarmee gepaard gaande risico op hart- en vaatziekten gelegd. Kortdurende caloriebeperking op volwassen leeftijd verstoort alleen in de Zuid-Aziatische proefpersonen de anti-inflammatoire capaciteit. Dus in plaats van gunstig te zijn, lijkt caloriebeperking eerder schadelijk voor Zuid Aziaten wat betreft de anti-inflammatoire functie. Mogelijk is deze verslechtering alleen aanwezig in de caloriebeperkte toestand, en normaliseert deze zich weer na gewichtsverlies en herintroducering van een normaal dieet. Dit zou deels

het gevolg kunnen zijn van de hogere afgifte van pro-inflammatoire cytokinen door vetcellen in Zuid Aziaten, die verergerd kan worden in geval van caloriebeperking.

Tot slot was het vermogen van HDL om cholesterol efflux te induceren vergelijkbaar tussen de bevolkingsgroepen. In beide groepen nam de cholesterol efflux toe na een 5-dagen HFHCD en af na een 8-dagen VLCD.

Concluderend hebben we aangetoond dat de anti-inflammatoire functie van HDL verminderd was in Zuid Aziatische pasgeborenen, en significant gestoord was na kortdurende caloriebeperking in volwassen Zuid Aziaten. Verder was de anti-oxidatieve capaciteit van HDL gestoord in volwassen Zuid Aziaten, wat nog niet het geval was op jonge leeftijd, en daarom mogelijk het gevolg is van exogene factoren. Deze verstoringen in HDL functionaliteit zouden bij kunnen dragen aan het overmatige risico op hart- en vaatziekten, en mogelijk ook diabetes, in mensen van Zuid Aziatische afkomst.

CONCLUSIE EN TOEKOMSTIG ONDERZOEK

De etnische ongelijkheid tussen Zuid Aziaten en blanke Kaukasiërs in het risico op diabetes en hart- en vaatziekten is waarschijnlijk te wijten aan verschillen in genen, maar ook aan andere programmeringsinvloeden (gedurende de afgelopen eeuwen maar bijvoorbeeld ook door ongunstige omstandigheden in de baarmoeder zoals bij maternale ondervoeding of hyperglykemie), leidend tot het huidige ongunstige metabole Zuid Aziatische fenotype. Dit fenotype was oorspronkelijk gunstig voor de overleving onder bepaalde nadelige omstandigheden, zoals terugkerende hongersnood, ongunstige klimatologische omstandigheden en bepaalde infectieziekten, maar past nu niet meer bij de moderne Westerse levensstijl en langere levensverwachting. Daarnaast zullen ook demografische en omgevingsfactoren secundair aan verstedelijking hebben bijgedragen aan de gevoeligheid van Zuid Aziatische mensen voor het ontwikkelen van diabetes en hart- en vaatziekten. Dit proefschrift had als doel meer inzicht te krijgen in de pathogenese van deze aandoeningen in Zuid Aziaten. Het lijkt erop dat bovenstaande factoren niet één, maar meerdere belangrijke metabole mechanismen beïnvloed hebben. Een aantal van deze mechanismen zijn in dit proefschrift onderzocht.

Ten eerste de *insuline signaalroute*. Een kortdurende HFHCD verminderde al de perifere insulinegevoeligheid in de jonge Zuid Aziatische groep, en in de oudere groep was deze al in de uitgangssituatie lager. In beide leeftijdsgroepen leek dit het gevolg te zijn van een afgenomen NOGD wat een probleem in de glycogeenopslag suggereert. Op spierniveau werden echter geen verschillen gevonden in expressie van eiwitten en genen betrokken bij de afbraak en opslag van glycogeen. Daarnaast waren er geen verschillen in de insuline signaalroute, expressie van metabole genen of mitochondriële elektronentransportketen (een indirecte maat voor de mitochondriële functie). Een

andere bevinding was dat hogere insulineaarden tijdens een OGTT in Zuid Aziaten gepaard gingen met hogere waarden van GLP-1, waarschijnlijk als aanpassing aan de insulineresistentie. Verder onderzoek naar de rol van het glycogeenmetabolisme, mitochondriële functie en GLP-1 is nodig. Ook zou het interessant zijn om de rol van wit vetweefsel te onderzoeken, aangezien ongeveer 10-20% van de insulinegestimuleerde glucoseopname optreedt in wit vetweefsel.

Ten tweede de *energie/nutriënt-gevoelige signaalroutes*. De oudere Zuid Aziatische groep liet een andere metabole aanpassing zien aan kortdurende caloriebeperking in vergelijking tot blanke mannen van Kaukasische afkomst met een toename in insuline geïnduceerde activatie van de ERK-mTOR-S6K1 signaalroute op spierniveau. Dit ging onder meer gepaard met een gestoorde metabole flexibiliteit. Verder onderzoek naar de rol van energie/nutriënt-gevoelige signaalroutes in de glucose- en vetstofwisseling en metabole flexibiliteit in spier en wit vet voor en na inspanning en langer durende dieetinterventies zou interessant zijn.

Ten derde *bruin vet*. Bruin vet is betrokken in het totale energiegebruik. Het volume van bruin vet bleek lager te zijn in de jonge groep Zuid Aziaten. Toekomstig onderzoek moet bekijken wat de onderliggende oorzaak hiervan is, zoals een verminderde expressie van signaalmoleculen betrokken in de differentiatie van bruin vet. Ook is het interessant om onderzoek te doen gericht op het ontwikkelen van nieuwe strategieën om bruin volume en/of activiteit te vergroten.

Ten vierde *HDL functie*. Er was sprake van een leeftijdsafhankelijke dysfunctie van HDL in de Zuid Aziatische proefpersonen wat mogelijk bij zou kunnen dragen aan hun hoge risico op hart- en vaatziekten. Toekomstige studies moeten bijvoorbeeld gericht zijn op het ontwikkelen van behandelstrategieën die de HDL functionaliteit kunnen verbeteren en of dit daadwerkelijk het cardiovasculaire risico vermindert in Zuid Aziaten.

Ook zijn er mechanismen die niet in dit proefschrift onderzocht zijn maar wel aandacht verdienen. Zoals de *endotheel functie*. Endotheel dysfunctie is betrokken in de ontwikkeling van atherosclerose. Enkele studies hebben al tekenen van endotheel dysfunctie aangetoond in Zuid Aziaten. Het *sympathische zenuwstelsel*. Het sympathisch zenuwstelsel speelt onder meer een rol in het energiegebruik. De mindere toename in vrije vetzuren na caloriebeperking in volwassen Zuid Aziaten en na koude expositie in jonge Zuid Aziaten, samen met een mindere toename in vetverbranding in de volwassen groep en een lagere koude geïnduceerde toename in vetverbranding en bloeddruk in de jonge groep kan wijzen op verschillen in sympathische activatie en/of resistentie voor sympathische activatie. Andere interessante gebieden om nog te onderzoeken zijn bijvoorbeeld de *functie van witte vetcellen*, het *cortisol metabolisme* en het *darm microbiom* (bacteriën in het maag-darmkanaal).

Concluderend zijn er nog tal van veelbelovende onderzoeksgebieden om nieuwe strategieën voor de preventie en behandeling van type 2 diabetes en hart- en vaatziekten in mensen van Zuid Aziatische afkomst te vinden en daarmee uiteindelijk het grote gezondheids- en sociaaleconomische probleem wereldwijd aan te pakken.

