



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Combatting metabolic disease : ethnic aspects, mechanisms and novel treatment strategies

Nahon, K.J.

Citation

Nahon, K. J. (2018, November 15). *Combatting metabolic disease : ethnic aspects, mechanisms and novel treatment strategies*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/66800>

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/1887/66800>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/66800> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Nahon, K.J.

Title: Combatting metabolic disease : ethnic aspects, mechanisms and novel treatment strategies

Issue Date: 2018-11-15

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Ernstig overgewicht, ofwel obesitas, is momenteel wereldwijd één van de grootste gezondheidsproblemen. Obesitas ontstaat door overmatige opslag van suiker en vet als 'triglyceriden' in vetweefsel. Men spreekt van obesitas als de *body mass index* (BMI), berekend als het gewicht gedeeld door de lengte in het kwadraat, hoger is dan 30 kg/m². Sinds 1980 is het aantal mensen met obesitas verdubbeld tot maar liefst 12% van de wereldbevolking in 2015 (604 miljoen mensen). Naar verwachting zal dit aantal de komende jaren blijven stijgen. Obesitas gaat vaak gepaard met een situatie waarin organen niet meer gevoelig zijn voor het hormoon insuline (zogenaamde 'insulineresistentie'), wat leidt tot suikerziekte ('diabetes'), een conditie waarin het bloedsuiker verhoogd is. Insulineresistentie leidt ook tot ophoping van triglyceriden en cholesterol in het bloed (zogenaamde 'dyslipidemie'), waardoor obesitas vaak samengaat met slagaderverkalking ('atherosclerose'), de belangrijkste oorzaak van hart- en vaatziekten.

De huidige behandelstrategieën voor obesitas zoals calorische beperking en bewegen zijn vaak niet effectief op de lange termijn met uitzondering van sommige operaties die tot doel hebben om gewicht te verminderen ('bariatrische chirurgie'), zoals maagverkleining of een zogenaamde 'bypass'. Daarnaast verschilt de incidentie van obesitas per bevolkingsgroep. Zo heeft de Hindoestaanse populatie een verhoogd risico op obesitas en gerelateerde ziekten waaronder diabetes en hart- en vaatziekten ten opzichte van West-Europeanen. Waarom Hindoestanen hier een verhoogd risico op hebben is niet volledig bekend. Door de ontstaansmechanismen van obesitas in de diverse etnische groepen beter te begrijpen kunnen er specifieke behandelstrategieën ontwikkeld worden in de strijd tegen obesitas en gerelateerde ziekten.

In het lichaam zijn twee typen vetcellen te onderscheiden: witte en bruine vetcellen. Witte vetcellen zorgen voor de opslag van triglyceriden terwijl bruine vetcellen juist triglyceriden kunnen verbranden voor de productie van warmte ('thermogenese'). Lange tijd werd gedacht dat alleen pasgeborenen over bruin vet beschikken voor het in stand houden van de lichaamstemperatuur. Echter, in 2009 werd ontdekt dat volwassenen ook nog bruin vet hebben (ongeveer 200-300 gram), en dat dit door blootstelling aan kou wordt geactiveerd wat resulteert in een toename in het energieverbruik. Daarom wordt bruin vet momenteel beschouwd als een interessant aangrijpingspunt om obesitas en gerelateerde ziekten te behandelen. Bij blootstelling aan kou wordt in de hersenen een signaal opgewekt dat via het stimuleren van zenuwen bruine vetcellen aanzet tot warmteproductie. Belangrijk hierbij is dat door zenuwuiteinden het hormoon noradrenaline wordt uitgescheiden dat vervolgens bindt aan zogenaamde β 3-adrenerge receptoren op de bruine vetcellen. Alhoewel bruin vet dus geactiveerd kan worden door kou, is blootstelling aan kou geen prettige behandelstrategie om de hoeveelheid lichaamsvet

in mensen te doen verminderen. Wereldwijd zijn onderzoekers dan ook naarstig op zoek naar andere manieren om bruin vet te activeren, bijvoorbeeld door geneesmiddelen.

De studies waarvan de resultaten in dit proefschrift zijn beschreven, hadden tot doel om 1) nieuwe verklaringen te vinden waarom Hindoestanen een verhoogd risico hebben op de ontwikkeling van obesitas en obesitas-gerelateerde ziekten, en 2) nieuwe behandelstrategieën te onderzoeken om bruin vet te activeren en het energieverbruik kunnen verhogen in bevolkingsgroepen met een verhoogd risico op obesitas en gerelateerde ziekten, waaronder Hindoestanen en mensen met overgewicht en een voorstadium van diabetes ('prediabetes'). **Hoofdstuk 1** fungeert als een algemene inleiding waarin de ontstaanswijze van obesitas, diabetes en hart- en vaatziekten wordt uitgelegd. Daarnaast worden het metabole fenotype en de reeds bekende risicofactoren voor de ontwikkeling van obesitas en gerelateerde ziekten van de Hindoestaanse bevolking beschreven. Tenslotte wordt de werking van bruin vet uitgelegd alsmede de mogelijke rol van bruin vet in de behandeling van obesitas en gerelateerde ziekten.

In het eerste deel van dit proefschrift onderzochten we verschillende factoren die mogelijk het verhoogde risico op het ontstaan van obesitas en obesitas-gerelateerde ziekten in Hindoestanen mede verklaren. Het was al bekend dat hoge bloedconcentraties van endocannabinoïden, lichaamseigen stoffen die de noradrenaline signalering kunnen remmen, geassocieerd zijn met obesitas en met een lage activiteit van bruin vet. Tevens is uit eerder onderzoek gebleken dat Hindoestanen een lager energieverbruik in rust ('ruststofwisseling') en minder bruin vet hebben dan West-Europeanen. Op basis van deze gegevens vormden wij de hypothese dat Hindoestanen hogere plasmaconcentraties van endocannabinoïden hebben dan West-Europeanen, wat we vervolgens onderzochten in **Hoofdstuk 2**. Hiertoe includeerden wij tien jonge, gezonde, slanke Hindoestaanse mannen tussen de 18 en 28 jaar en tien West-Europese mannen van dezelfde leeftijd en BMI. Het energieverbruik werd gemeten en bloedplasma werd verzameld om endocannabinoïden en lipiden te meten. We toonden aan dat Hindoestanen, vergeleken met West-Europeanen, hogere plasmaniveaus hadden van de endocannabinoïden 2-arachidonoylglycerol (2-AG), N-arachidonylethanolamine (AEA) en arachidonzuur. Tevens bleek er een positief verband te bestaan tussen plasma 2-AG niveaus en plasma triglyceridenniveaus en tussen plasma 2-AG niveaus en het lichaamsvetpercentage. Daarnaast was er een negatief verband tussen het plasmaniveau van arachidonzuur en het energieverbruik en een positief verband tussen het plasmaniveau van arachidonzuur en het lichaamsvetpercentage. Aangezien endocannabinoïden de noradrenalinesignaling remmen zouden de verhoogde plasma endocannabinoid levels mogelijk kunnen bijdragen aan het ontstaan van het ongunstige metabole fenotype van Hindoestanen op latere leeftijd.

Omdat endocannabinoïden in verschillende organen worden geproduceerd en vervolgens aan het bloed worden afgegeven, vroegen wij ons af in welke mate de diverse metabole organen bijdragen aan het plasmaniveau van endocannabinoïden. Om die reden hebben wij in **Hoofdstuk 3**, naast endocannabinoïdeniveaus in het plasma, ook de regulering van endocannabinoïden in wit vet en spierweefsel bestudeerd. Tien Hindoestaanse mannen tussen de 35 en 50 jaar met overgewicht en prediabetes en tien West-Europese mannen van dezelfde leeftijd en BMI, werden geïnccludeerd in deze studie. Wederom werd het energieverbruik gemeten en bloedplasma verzameld om endocannabinoïden en lipiden te meten. Daarnaast werden er bipten genomen van wit vet en spierweefsel om genexpressie van de endocannabinoïdreceptoren en de expressie van genen die betrokken zijn bij de productie en afbraak van endocannabinoïden te meten. Wij toonden aan dat Hindoestanen hogere niveaus hadden van de endocannabinoïden 2-linoleoyl glycerol en *N*-linoleoylethanolamine in bloedplasma vergeleken met West-Europeanen. Daarnaast was de genexpressie van de endocannabinoïdreceptoren CB₁ en CB₂ in spierweefsel veel lager in Hindoestanen vergeleken met West-Europeanen. Ook was de genexpressie van het enzym FAAH2 dat betrokken is bij de afbraak van endocannabinoïden veel lager in Hindoestanen. In wit vet was er geen verschil in de genexpressie van de endocannabinoïdreceptoren of de expressie van genen die betrokken zijn bij de synthese en afbraak van endocannabinoïden tussen de etniciteiten. Tevens bleek er een positief verband te bestaan tussen 2-AG niveaus in het bloedplasma en zowel triglyceridenniveaus als de vetverbranding. Deze resultaten ondersteunen onze bevindingen in Hoofdstuk 2, namelijk dat Hindoestanen hogere endocannabinoïdenconcentraties in het bloedplasma hebben dan West-Europeanen. Mogelijk kan dit verklaard worden door een verlaagde afbraak van endocannabinoïden in de spier. Aanvullende studies zijn nodig om te onderzoeken of Hindoestanen mogelijk baat hebben bij behandelingen die het endocannabinoïdensysteem beïnvloeden.

Vervolgens verplaatsten wij onze focus van het endocannabinoïdensysteem naar angiopoietine-achtige eiwitten, specifiek het angiopoietine-achtig eiwit 4 (ANGPTL4). Eerder onderzoek heeft laten zien dat blootstelling aan kou de vrije vetzuurniveaus in het bloedplasma minder doet stijgen in Hindoestanen vergeleken met West-Europeanen. Vrije vetzuren kunnen peroxisoomproliferatorgeactiveerde receptoren activeren die betrokken zijn bij de synthese van ANGPTL4. ANGPTL4 remt de lipolytische activiteit van lipoproteïnelipase, en daarmee de opname van vrije vetzuren door organen vanuit triglyceriden uit het bloed. In **Hoofdstuk 4** bestudeerden wij het effect van kortdurende blootstelling aan milde kou op het serumniveau van ANGPTL4 in jonge, gezonde Hindoestaanse en West-Europese mannen. Wij toonden aan dat ANGPTL4 niveaus stegen na blootstelling aan milde kou. De toename in ANGPTL4 was minder groot in Hindoestanen vergeleken met West-Europeanen. Daarnaast was er een positief verband tussen thermoneutrale ANGPTL4 niveaus en vrije vetzuurniveaus in het serum en met

het lichaamsvetpercentage. ANGPTL4 niveaus lieten een negatief verband zien met het energieverbruik. Als onderliggend mechanisme speculeren wij dat blootstelling aan kou intracellulaire lipolyse in wit vet stimuleert, wat resulteert in vrijmaking van vetzuren en ten gevolge daarvan een verhoging van vrije vetzuren in het bloed. Intracellulair kunnen vrije vetzuren via peroxisoomproliferatorgeactiveerde receptoren de aanmaak van ANGPTL4 stimuleren dat vervolgens de opname van vrije vetzuren vanuit triglyceriden vanuit het bloed remt. De efficiëntie van dit proces is lager in Hindoestanen, mogelijk door verminderde sympathische signalering.

Tijdens blootstelling aan kou neemt de warmteproductie toe om de lichaamstemperatuur op peil te houden. Hierbij worden vetten verbrand, wat resulteert in de vorming van afbraakproducten ('metabolieten'). In **Hoofdstuk 5** onderzochten wij hoe kortdurende milde blootstelling aan kou 190 metabolieten in het bloed beïnvloedt en of deze respons verschilt tussen Hindoestanen en West-Europeanen. Hoewel milde kou effecten had op meerdere metabolieten, was de respons niet verschillend tussen de twee etniciteiten. Na het samenvoegen van de data van beide etniciteiten, konden wij aantonen dat blootstelling aan kou 44 metabolieten beïnvloedde. Met name de fosphatidylcholines met lange vetzuurketens en sphingomyelines namen toe na kou. Daarnaast verhoogde kou glutamine, glycine en histidine en verlaagde het de korte-keten acylcarnitines (C2 en C4). Kortdurende blootstelling aan milde kou induceert dus substantiële veranderingen in de serum metabolieten maar deze effecten zijn onafhankelijk van de vergeleken etniciteiten. Toekomstig onderzoek zal moeten uitwijzen wat de fysiologische relevantie is van deze veranderingen in niveaus van metabolieten in het serum in respons op kou.

In het tweede deel van dit proefschrift bestudeerden wij twee veelbelovende farmacologische strategieën om bruin vet te activeren in Hindoestanen en mensen van West-Europese afkomst met overgewicht en prediabetes, beiden risicopopulaties voor het ontwikkelen van diabetes en hart- en vaatziekten. In **Hoofdstuk 6** onderzochten wij het effect van mirabegron, een specifieke agonist van de β_3 -adrenerge receptor die in de fysiologische situatie door stimulatie van het centraal zenuwstelsel wordt geactiveerd, op het energieverbruik en bruin vet in 20 jonge, gezonde Hindoestaanse en West-Europese mannen. Zij participeerden in een gerandomiseerde, dubbelblinde, cross-over studie die bestond uit drie verschillende interventies; kortdurende milde kou, een enkele dosis mirabegron (200 mg) en een placebo behandeling. Wij toonden aan dat zowel blootstelling aan kou als mirabegron resulteerden in een toename van vrije vetzuren in het bloed, het energieverbruik, de vetverbranding en de supraclaviculaire huidtemperatuur. Daarnaast leken beide strategieën het percentage vet in bruin vet te verlagen. Aangezien actief bruin vet zijn intracellulaire vetten verbrandt, suggereert de afname van de intracellulair vetfractie activatie van bruin vet. Er was echter geen verschil in de metabole respons tussen de ethniciteiten. Aanvullend onderzoek moet

uitwijzen of kou en mirabegron ook de vetopname en oxidatieve capaciteit van bruin vet verhogen.

Remmers van dipeptidylpeptidase-4 (DPP4), die de beschikbaarheid van het hormoon glucagonachtige peptide-1 (GLP-1) verhogen, activeren bruin vet in muizen. Om te onderzoeken of DPP4 remming ook bruin vet activeert in mensen bestudeerden wij in **Hoofdstuk 7** het effect van de DPP4 remmer sitagliptine op de bruin vet activiteit in West-Europese mannen met overgewicht en prediabetes. Daarnaast onderzochten wij ook het effect van sitagliptine op de suiker- en vetstofwisseling en de spierstofwisseling in deze populatie. Dertig West-Europese mannen met overgewicht en prediabetes participeerden in een dubbelblinde, gerandomiseerde, placebo-gecontroleerde studie waarin zij gedurende 12 weken sitagliptine (100 mg/dag) ofwel placebo toegediend kregen. Voor en na de 12-weekse behandeling werden er bloedmonsters afgenomen voor bepaling van suiker, insuline en lipiden en werden het energieverbruik en de suiker- en vetverbranding gemeten. Ook werd de opname van een suikerlabel door bruin vet, wit vet en spier gemeten door middel van een PET-CT scan, en werd een orale glucose tolerantie test verricht en een spierbiopt afgenomen. Wij toonden aan dat sitagliptine, ten opzichte van placebo, de gevoeligheid voor suiker verbeterde. Daarnaast verlaagde sitagliptine de triglyceridenniveaus in plasma. In de spierbiopten verhoogde sitagliptine de expressie van *PGC1 β* , een gen dat betrokken is bij de verbranding in de mitochondriën. Daarnaast verhoogde sitagliptine de opname van het suikerlabel in wit vet, maar niet in bruin vet en spier. Hieruit concludeerden wij dat sitagliptine een gunstig effect heeft op de suiker- en vetstofwisseling in mannen met overgewicht en prediabetes en dat deze effecten mechanistisch mogelijk verklaard kunnen worden door 'verbruining' van het witte vet en/of een verbeterde oxidatieve capaciteit van de mitochondriën in de spier.

Tot slot werden de belangrijkste resultaten van de studies die beschreven zijn in dit proefschrift geëvalueerd in **Hoofdstuk 8**. Tevens werden de implicaties voor toekomstige onderzoeken besproken. Enkele nieuwe factoren worden benadrukt die deels kunnen bijdragen aan het verhoogde risico op obesitas en obesitas-gerelateerde ziekten in de Hindoestaanse populatie en er wordt gespeculeerd over onderliggende mechanismes. Ook komen er nieuwe mogelijke behandelstrategieën aan bod die bruin vet kunnen activeren en daarmee ook het energieverbruik en de suiker- en vetstofwisseling kunnen moduleren om daarmee obesitas en obesitas-gerelateerde ziekten te behandelen. Tot slot worden enkele methodologische uitdagingen in het huidige onderzoek naar bruin vet besproken, alsmede enkele nieuwe uitleesmaten voor de activiteit van bruin vet in mensen. Wat de klinische waarde is van bruin vetactivatie in de kliniek voor de behandeling van obesitas, type 2 diabetes en hart- en vaatziekten zal waarschijnlijk duidelijk worden in de komende jaren.