



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Targeting inter-organ cross-talk in cardiometabolic diseases

Liu, C.

### Citation

Liu, C. (2023, May 16). *Targeting inter-organ cross-talk in cardiometabolic diseases*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3618361>

Version: 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/1887/3618361>

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

## SAMENVATTING

Cardiometabole gezondheid wordt sterk gereguleerd door een complex netwerk van communicatie tussen organen. Ontregeling van dit netwerk is geassocieerd met de ontwikkeling van cardiometabole ziekten, wat aangeeft dat het netwerk van communicatie tussen organen een therapeutisch doelwit is voor deze ziekten. In dit proefschrift heb ik op basis van dit communicatienetwerk tussen organen therapeutische mogelijkheden onderzocht en therapieën voorgesteld voor de behandeling van cardiometabole ziekten zoals obesitas, hart- en vaatziekten en niet-alcoholische steatohepatitis (NASH). **Hoofdstuk 1** vormt een algemene introductie over het belang van het orgaancommunicatie voor de cardiometabole gezondheid. Hierin leg ik uit dat organen met elkaar kunnen communiceren om de stofwisseling van het hele lichaam te reguleren door het produceren van signaalmoleculen, zoals peptide/eiwit-hormonen, bioactieve lipiden en functionele kleine moleculen.

Bacteriën in de darm produceren stoffen ('metabolieten') die fungeren als signaalmoleculen richting verschillende weefsels en organen die betrokken zijn bij de stofwisseling, en op die manier de cardiometabole gezondheid van de gastheer beïnvloedt. Darmbacteriën zetten bijvoorbeeld choline uit de voeding om in trimethylamine (TMA) dat via de poortader de lever bereikt, alwaar levercellen ('hepatocyten') het TMA met behulp van specifieke enzymen ('*flavin monooxygenases*') omzetten tot trimethylamine-N-oxide (TMAO). Studies die zijn uitgevoerd in *Apoe*<sup>-/-</sup> en *Ldlr*<sup>-/-</sup> muizen toonden aan dat TMAO slagaderverkalking ('atherosclerose') verergert door de vorming van schuimcellen te bevorderen en ontstekingen te activeren. Aan de andere kant is aangetoond dat butyraat, een bioactieve stof die geproduceerd wordt door darmbacteriën als gevolg van de afbraak van voedingsvezels, in dezelfde muismodellen darmbacteriën gunstig beïnvloedt en zowel ontstekingsremmende als anti-atherogene eigenschappen heeft. Daarom hebben we in **Hoofdstuk 2** onderzocht of butyraat in staat is choline-geïnduceerde atherosclerose te verminderen. Hiertoe gebruikten we *APOE\*3-Leiden.CETP* muizen, een bewezen model voor de menselijke vetstofwisseling en atherosclerose, en voerden deze muizen een atherosclerose-bevorderend dieet zonder en met choline, butyraat of de combinatie van beide. Interessant genoeg zagen we dat choline toename in lichaamsvet tegenging, de hoeveelheid ontstekingsremmende bacteriën in de darm deed toenemen en de expressie van bacteriële genen die betrokken zijn bij de afbraak van TMA en TMAO verhoogde. Butyraat verminderde op een soortgelijke manier de toename in lichaamsvet en had ook een gunstig effect op de darm, wat bleek uit een verhoogde aanwezigheid van ontstekingsremmende en korteketenvezuren-producerende bacteriën, en een lagere

expressie van bacteriële genen die betrokken zijn bij de vorming van lipopolysaccharide, een onderdeel van bacteriën met schadelijke effecten voor de gastheer. Zowel choline als butyraat verhoogden de expressie van *flavin monoxygenases* door de lever, en de combinatie van beide resulteerde in de hoogste concentratie van TMAO in het bloed. Desondanks hadden choline, butyraat en hun combinatie geen invloed op de ontwikkeling van atherosclerose en associeerden TMAO niveaus niet met de grootte van de atherosclerotische lesies. Omdat deze gegevens verkregen zijn in een muismodel dat relevant is voor menselijke cardiometabole ziekten, suggereren zij dat TMAO geen atherogene eigenschappen heeft bij mensen.

Studies in muizen met dieet-geïnduceerde obesitas en in muizen die obees zijn door een genetische oorzaak ('*ob/ob* muizen') hebben een verband aangetoond tussen een verhoogde inname van choline in de voeding en een verhoogde incidentie van obesitas. Ons hierboven beschreven onderzoek heeft echter beschermde effecten laten zien van een hoge inname van choline op obesitas, wat overeenkomt met diverse klinische onderzoeken. Om te begrijpen waardoor choline in een menselijke setting obesitas vermindert, onderzochten we in **Hoofdstuk 3** het effect van de inname van choline op lichaamsvet, als ook de onderliggende mechanismen, door weer gebruik te maken van *APOE\*3-Leiden.CETP* muizen. We toonden aan dat een dieet rijk aan choline het lichaamsvet verlaagde door bruin vetweefsel te activeren, waardoor de afbraak van triglyceridenrijke vetbolletjes ('lipoproteïnen') in het bloed werd versneld en cholesterol in het bloed werd verlaagd. Bovendien verminderde choline leververvetting en leverschade, wat gepaard ging met een verhoogde expressie van genen die betrokken zijn bij vetzuurverbranding in de lever. Deze gegevens bieden dus een mechanistische onderbouwing voor de waarneming in mensen dat een hoge inname van choline gerelateerd is aan een verminderd lichaamsgewicht.

Recente klinische studies hebben laten zien dat  $\gamma$ -hydroxybutyraat (GHB), een korteketenvetzuur dat sterk lijkt op butyraat en wordt gebruikt bij de behandeling van narcolepsie, gewichtsverlies bevordert via vooralsnog onbekende mechanismen. Narcolepsie is een klinische aandoening waarbij de slaap sterk wordt verstoord, wat gepaard gaat met een toename van het lichaamsgewicht en vaak leidt tot obesitas. Hoewel GHB gebruikt wordt bij de behandeling van narcolepsie, is het onwaarschijnlijk dat het als anti-obesitasmiddel wordt voorgeschreven vanwege centrale effecten en bijwerkingen die gepaard gaan met misbruik van GHB, zoals ernstige ademhalingsdepressie. Desondanks kan het ontrafelen van de onderliggende mechanismen waardoor GHB het lichaamsgewicht vermindert therapeutische aanknopingspunten opleveren voor de ontwikkeling van effectieve medicatie om af te vallen. In **Hoofdstuk 4** hebben we daarom onderzocht welk effect orale behandeling

met GHB heeft bij de preventie en behandeling van dieet-geïnduceerde obesitas in C57BL/6J muizen. Bij de behandeling van al obese muizen, maar niet bij het voorkomen van obesitas in muizen die nog slank zijn, verminderde GHB de toename van vetmassa, glucose intolerantie en insulineresistentie die ontstaan ten gevolge van het vetrijke dieet. Daarentegen verminderde GHB leververvetting en leverontsteking in zowel slanke als dikke muizen. Dit ging gepaard met verbetering van de functie van de energiefabriekjes ('mitochondriën') in de lever, aangetoond door een hogere expressie van genen in de lever betrokken bij de aanmaak van eiwitten die onderdeel zijn van de zogenaamde 'ademhalingsketen'. Hierdoor verminderde GHB bij het ontstaan van obesitas de ophoping van giftige vetten ('sfcingolipiden') in de lever en in de bloedbaan. Bij bestaande obesitas voorkwam GHB de afname van retinoïden in de lever en verhoogde het de circulerende hoeveelheid acyl-carnitine, een brandstof voor bruin vetweefsel. In overeenstemming hiermee verminderde GHB de ontregeling van vetweefsel in obese muizen ten gevolge van het vetrijk dieet, aangetoond door een verhoogde aanwezigheid van het ontkoppelingseiwit-1 (*uncoupling protein-1; UCP-1*) in bruin vetweefsel en kleinere vetcellen en minder ontsteking in het wit vetweefsel. Bovendien had GHB een gunstig effect op de samenstelling van de darmbacteriën, aangetoond door een verrijking van korteketenvetzuren-producerende bacteriën tijdens het ontstaan van obesitas en ontstekingsremmende en succinaat-producerende bacteriën bij al bestaande obesitas. Samengevat bevordert GHB de metabole gezondheid tijdens zowel de preventie als behandeling van obesitas, wat samenhangt met verbetering van de mitochondriële functie in de lever en een gunstige beïnvloeding van darmbacteriën. Hiermee brengen deze bevindingen onbekende metabole effecten van GHB met betrekking tot gewichtsbeheersing aan het licht en bieden zij inzichten voor nieuwe aanknopingspunten voor het behandelen van obesitas en gerelateerde ziekten.

Naast bacteriën in de darm produceert de lever ook signaalmoleculen ('hepatokinen') die de stofwisseling in het lichaam beïnvloeden. Een zeer interessant hepatokine is fibroblast-groefactor 21 (FGF21), aangezien analogen van FGF21 in klinische ontwikkeling zijn om obesitas en type 2 diabetes te behandelen. Hoewel hun glucose-verlagende en insuline-sensibiliserende effecten grotendeels zijn ontrafeld, zijn de mechanismen waarmee ze leverbeschadiging verminderen nog nauwelijks onderzocht. In **Hoofdstuk 5** hebben we de mechanismen die ten grondslag liggen aan de beschermende effecten van FGF21 op NASH onthuld, opnieuw door gebruik te maken van *APOE\*3-Leiden.CETP* muizen. FGF21 werd specifiek in de lever van deze muizen hoog tot expressie gebracht door gebruik te maken van een genetisch gemodificeerd verkoudheidsvirus, waarna de muizen behandeld werden met een vet- en cholesterolrijk dieet gedurende 23 weken. We constateerden dat hoge expressie van FGF21 in de lever de opname en opstapeling van vet verlaagde door aan te grijpen op

zowel vetweefsel ('endocriene signalering') als de lever zelf ('autocriene signalering'). Hierdoor werd de activatie van ontstekingscellen in de lever ('Kupffercellen') voorkomen en nam de aanwezigheid van vet- en litteken-geassocieerde macrofagen af, waardoor littekenvorming in de lever werd afgeremd. Deze bevindingen bieden mechanistische inzichten die het therapeutische potentieel van FGF21 voor de behandeling van NASH verder versterken en momenteel lopende klinische trials die de impact van langwerkende FGF21 op NASH evalueren ondersteunen. Vervolgens hebben we in **Hoofdstuk 6** het belang van FGF21 onderzocht voor andere aspecten van de cardiometabole gezondheid, met name de vetstofwisseling in relatie tot atherosclerose. Hiertoe dienden we langwerkend FGF21 toe aan *APOE\*3-Leiden.CETP* muizen die een atherosclerose-bevorderend dieet kregen. We toonden aan dat behandeling met langwerkend FGF21 het cholesterol in het bloed verlaagde. Dat bleek het gevolg te zijn van het activeren van bruin vetweefsel en van het zogenaamde 'verbruinen' van wit vetweefsel, waardoor de opname van vetzuren uit triglyceridenrijke lipoproteïnen door bruin en wit vetweefsel werd verbeterd en de opname van de cholesterolrijke resten van deze lipoproteïnen door de lever werd versneld. Bovendien verminderde langwerkend FGF21 het lichaamsvet, verbeterde het de glucosetolerantie en verminderde het de leververvetting, gerelateerd aan een verhoogde expressie genen in de lever die betrokken zijn bij de vetzuurverbranding en de secretie van triglyceriden in zeer lage dichtheidslipoproteïnen (*very low density lipoproteins; VLDL*) door de lever. Uiteindelijk had langwerkend FGF21 een sterk remmend effect op slagaderverkalking, wat voornamelijk werd verklaard door de vermindering van het cholesterol in het bloed, en verbeterde het de ernst en stabiliteit van atherosclerotische lesies. Deze data ondersteunen daarom de klinische toepassing van langwerkend FGF21 bij de behandeling van atherosclerotische cardiometabole ziekten.

Tenslotte werden in **Hoofdstuk 7** de resultaten van dit proefschrift in de context van de huidige wetenschappelijke literatuur geplaatst en nieuwe strategieën besproken om cardiometabole ziekten te bestrijden die geassocieerd zijn met verstoringen in de communicatie tussen organen. Samenvattend bieden de studies die beschreven zijn in dit proefschrift nieuwe inzichten in de communicatie tussen organen, met name de rol van darmbacteriën en de lever, die relevant zijn voor de behandeling van cardiometabole ziekten. Dieetinterventies blijven de meest effectieve strategie voor het beïnvloeden van darmbacteriën en hun rol in de communicatie tussen organen; zowel choline als butyraat hebben een gunstig effect op de samenstelling en functie van de darmbacteriën en gewichtsbeheersing. Daarnaast speelt de mitochondriële functie in hepatocyten een belangrijke rol in het metabolisme van de lever en het hele lichaam, en ik veronderstel dan ook dat therapieën die zich richten op de mitochondriën van hepatocyten veelbelovende mogelijkheden bieden voor het bestrijden van

cardiometabole ziekten. Tot slot stel ik FGF21-gebaseerde farmacotherapie voor als een veelbelovende strategie voor de behandeling van zowel NASH en hart- en vaatziekten die veroorzaakt worden door slagaderverkalking. De bevindingen beschreven in dit proefschrift benadrukken dus het belang van communicatie tussen organen voor de behandeling van cardiometabole ziekten en hebben ons begrip verbeterd van mechanismen die ten grondslag liggen aan cardiometabole ziekten, waaraan steeds meer mensen lijden.