

Nederlandse samenvatting

Genetische invloeden op de β -cel functie

een Nederlandse tweeling-familie studie

Samenvatting

In dit proefschrift wordt een experimentele studie beschreven bij gezonde monozygote (eeneiige) en dizygote (twee-eiige) tweelingen van gelijk geslacht en hun broers of zusters, allen geregistreerd bij het Nederlands Tweelingen Register van de Vrije Universiteit te Amsterdam. Het voornaamste doel was om de erfelijkheid te schatten van verschillende aspecten van de β -cel functie (β -cellen liggen in de alvleesklier en produceren insuline). Tevens wilden we een deel van de genen identificeren, die deze erfelijkheid veroorzaken. In het totaal werden 77 tweeling families in deze studie geïncludeerd. In een tijdsperiode van ruim 3 jaar (2004-2007) werd bij 150 tweelingen en 40 van hun broers /zusters in de leeftijd van 20-50 jaar thuis een OGTT verricht om de aanwezigheid van latente diabetes mellitus uit te sluiten en kwamen 190 van hen naar de research afdeling van het VU medisch centrum te Amsterdam voor een maaltijd test. Bovendien hebben 130 van hen op een derde testdag deelgenomen aan een euglycemische hyperinsulinemische clamp en aan een gemodificeerde hyperglycemische clamp met drie verschillende stimuli (glucose, GLP-1 en arginine).

In het eerste deel van dit proefschrift worden de uitgevoerde procedures en analyses beschreven. Eerst werden bloedglucose en β -cel functie parameters berekend uit de testen (OGTT, maaltijdtest en clamptesten) om vervolgens te komen tot een schatting van de erfelijkheid van deze parameters. Naast univariate analyses werden in Mx, een computerprogramma speciaal ontworpen voor analyse van tweeling en familie data, ook multivariate analyses gedaan. Hierdoor konden we nagaan in hoeverre verschillende glycemische en β -cel functie parameters beïnvloed worden door dezelfde genetische factoren. Tegelijkertijd onderzochten we in hoeverre genetische factoren die de β -cel functie beïnvloeden onafhankelijk zijn van de genetische factoren die lichaamssamenstelling en insuline gevoeligheid beïnvloeden.

In het tweede deel worden twee studies beschreven naar de associatie tussen genetische varianten, die het risico op diabetes mellitus type 2 verhogen, en enkele β -cel functie parameters.

Deze samenvatting wordt afgesloten met suggesties voor verder onderzoek.

HbA1c en nuchtere bloedglucose

HbA1c en nuchtere bloedglucose worden beiden gebruikt als diagnosticum voor diabetes mellitus type 2. In hoofdstuk 3 is de erfelijkheidsschatting van deze parameters beschreven en is de structuur van hun fenotypische en genetische correlatie geanalyseerd. De erfelijkheid van HbA1c werd geschat op 75%. De nuchtere bloedglucose was gemeten in drie verschillende testsituaties (bij de OGTT, de maaltijd test en de clamp test). De erfelijkheid van de nuchtere bloedglucose was verschillend in deze drie situaties (range 38% tot 66 %). De genetische correlatie tussen hen was echter hoog ($0.53 < r < 0.95$) en ik kwam tot de conclusie dat nuchtere bloedglucose waarden gemeten in verschillende situaties gerust gecombineerd mogen worden in studies naar de betreffende genen. De meest opmerkelijke bevindingen waren de geringe en niet significante correlatie tussen nuchtere bloedglucose en HbA1c en het feit dat er vrijwel geen gemeenschappelijke genetische invloeden werden gevonden voor de nuchtere bloed glucose en de HbA1c. Ik concludeerde dat deze twee glycemische parameters niet uitwisselbaar zijn, noch als criterium voor de diagnose diabetes mellitus type 2 noch in studies die de genen proberen te vinden voor deze ziekte. Beide bevatten unieke (genetische) informatie.

Insuline secretie door de β -cel bij een maaltijd met gestandaardiseerde samenstelling

Hoofdstuk 4 laat zien hoe een echte fysiologische prikkel, namelijk een maaltijd met gestandaardiseerde samenstelling, gebruikt kan worden om de erfelijkheid te onderzoeken van zowel klassieke als van via een wiskundig model berekende β -cel functie parameters. De erfelijkheid van de middelomtrek en de insuline gevoeligheid (OGIS) werden ook geschat omdat bekend is dat deze eigenschappen gecorreleerd zijn met β -cel functie. De resultaten toonden een significante erfelijkheid van de meeste klassieke β -cel functie parameters maar slechts van enkele uit het model berekende waarden. De insulinogene index, een belangrijke parameter van vroege insuline productie en een onafhankelijke voorspeller van verslechtering van de glucose tolerantie, had met 63% de hoogste erfelijkheid. Echter, één derde van deze erfelijkheid was gemeenschappelijk met de genetische invloeden op middelomtrek en insuline gevoeligheid. De via het model berekende β -cel glucose gevoeligheid, welke het vermogen van de β -cel kwantificeert om te reageren op de veranderingen in glucose concentratie en een significante onafhankelijke

voorspeller is van glucose intolerantie, had een hoge erfelijkheid (50%). Deze erfelijkheid van β -cel glucose gevoeligheid was slechts voor een verwaarloosbaar deel gemeenschappelijk met de genetische invloeden op middelomtrek en OGIS. Nuchtere insuline concentratie en nuchtere insuline secretie snelheid (ISR) hadden vergelijkbare erfelijkheidsschattingen (respectievelijk 38% en 43%). Echter, de nuchtere ISR is waarschijnlijk een betere maat voor de activiteit van de β -cel dan de nuchtere insuline concentratie omdat de insuline concentratie in sterke mate mede bepaald wordt door de insuline klaring. De ISR gedurende de eerste twee uur na de maaltijd toonde zowel in de eerste 30 minuten als in de daaropvolgende anderhalf uur een significante erfelijkheid (resp. 47% en 42 %). De genetische invloeden op de ISR gedurende de eerste 30 minuten vielen echter nauwelijks samen met die voor middelomtrek en OGIS, terwijl één derde van de erfelijkheid van de ISR gedurende de daaropvolgende volgende anderhalf uur samenviel met die voor middelomtrek en OGIS. Mijn conclusie was dat de gestandaardiseerde maaltijd test meerdere erfelijke aspecten van de β -cel oplevert. Deze bevindingen kunnen ons helpen om de werking van genetische varianten, die gevonden worden bij genom wide associatie studies, te bestuderen. De meest belovende parameters van β -cel functie zijn de via een model berekende β -cel glucose gevoeligheid en de insuline secretie snelheid gedurende de eerste 30 minuten na de maaltijd, omdat deze maten relatief onafhankelijk zijn van lichaamssamenstelling en insuline gevoeligheid.

De insuline respons van de β -cel op verschillende intraveneuze stimuli

In hoofdstuk 5 wordt het onderzoek beschreven naar de erfelijkheid van de insuline respons van de β -cel gedurende een gemodificeerde versie van de hyperglycemische clamptest, gebruikt door Fritsche et al. De schatting voor de erfelijkheid van de door glucose geïnduceerde insuline respons (GSIS) gedurende de eerste fase was 52% en van de GSIS gedurende de tweede fase 77%. De erfelijkheid van de insuline respons bij een bloedglucose van 10 mmol/l was na intraveneuze toediening van GLP-1 53% en na GLP-1 + arginine 80%. Hieruit concludeerde ik dat bij gezonde personen genetische factoren het grootste deel verklaren van de individuele verschillen in insuline respons na toediening van intraveneuze glucose en glucose gecombineerd met GLP-1 of GLP-1 + arginine.

De erfelijkheid van BMI en insuline gevoeligheid (ISI) werden op dezelfde dag onderzocht (resp. 74% en 60%), de laatste d.m.v. de euglycemische hyperinsulinemische

clamp. Wij vonden dat de genetische variantie die uniek was voor de β -cel functie, d.w.z. onafhankelijk van de genetische factoren die BMI en insuline gevoeligheid beïnvloeden, in wisselende mate bijdroeg aan de individuele verschillen in de insuline respons. Gedurende de eerste fase was deze unieke genetische variantie voor de β -cel functie slechts 14%, terwijl die gedurende de tweede fase 30% was en in de insuline respons als reactie op additionele GLP-1 en GLP-1 + arginine zelfs 37%. Hieruit concludeerde ik dat de vaak gebruikte eerste fase insuline respons waarschijnlijk een onvolledig beeld geeft van de genen die specifiek zijn voor de functie van de β -cel. Ik concludeerde tevens dat genetische factoren die de functie van de β -cel beïnvloeden deels dezelfde zijn als de factoren die BMI en insuline gevoeligheid beïnvloeden. Hieruit volgt dat in genetische studies correctie voor BMI en insuline gevoeligheid niet altijd wenselijk is.

Associatie tussen gen varianten, gerelateerd aan diabetes mellitus type 2 en β -cel functie parameters

In hoofdstuk 6 en 7 worden twee studies beschreven over de associatie tussen bekende en nieuwe gen varianten die gerelateerd zijn aan diabetes mellitus type 2 en de functie van de β -cel. Tot op heden werden voornamelijk OGTT uitkomsten gebruikt in genetische associatie studies met β -cel functie. Het nieuwe van deze studies was het gebruik van de hyperglycemische clamp, met tevens de clamp die drie verschillende stimuli combineerde (glucose, GLP-1 en arginine).

In de eerste studie werd een gecombineerde risico allel score gebruikt, welke gebaseerd was op acht bewezen β -cel gerelateerde gen varianten (*TCF7L2*, *KCNJ11*, *HHEX/IDE*, *CDKAL1*, *IGF2BP2*, *SLC30A8*, *CDKN2A/B* and *MTNR1B*). De data kwamen van drie onafhankelijke studies in Nederland (Hoorn, Utrecht en NTR/VUmc Amsterdam) en een studie uit Tübingen, Duitsland. Alleen de snelle eerste fase van de glucose gestimuleerde insuline secretie (GSIS) en de dispositie index (= eerste fase insuline productie x insuline gevoeligheid) waren significant omgekeerd gecorreleerd met deze gecombineerde risico allel score. Daarentegen was er geen associatie met de insuline productie gedurende de langzamere tweede fase, de GLP-1 en arginine geïnduceerde insuline productie of met de insuline gevoeligheid. Verder zagen we dat er een sterke correlatie was tussen deze gecombineerde risico allel score en de afwezigheid van een eerste fase insuline piek in de proefpersonen met verminderde glucose tolerantie. Dit

fenomeen is een belangrijke voorspeller van toekomstige ontwikkeling van diabetes mellitus type 2. Wij concludeerden dat deze acht β -cel gerelateerde gen varianten vooral een schadelijke invloed hebben op de processen die betrokken zijn bij de vroege snelle werving en uitstoting van insuline na glucose stimulatie.

Het doel van de tweede associatiestudie, die beschreven wordt in hoofdstuk 7, was om van ieder van de 12 onlangs ontdekte genetische varianten gerelateerd aan diabetes mellitus type 2 de associatie met de β -cel functie parameters te onderzoeken. De data kwamen van de eerdere vermelde drie onafhankelijke Nederlandse clamp studies. De enige associatie met insuline gevoeligheid werd gevonden in dragers van het T risk allel in *THADA*, die een significant lagere insuline gevoeligheid toonden. Een verhoogde, eerste fase GSIS was geassocieerd met het C risk allel van het *ADAMTS9* gen, terwijl dragers van het TT risk genotype van de *BCL11A* locus een lagere eerste fase GSIS hadden. Risico varianten in het *CDC123/CAMKID* gen en het T risk allel in *THADA* waren geassocieerd met een significant verminderde tweede fase GSIS. GLP-1 en arginine geïnduceerde insuline secretie waren, hoewel niet altijd statistisch significant, verminderd in het homozygote *THADA* TT risico genotype, wat suggereert dat een kleinere β -cel massa mogelijk het pathogene mechanisme is.

Het was opmerkelijk dat dragers van het risico allel van het *MTNR1B* gen een verhoogde insuline respons hadden na GLP-1 (+30%, $p=0.03$) en arginine stimulatie (+19%, $p=0.037$). Als dit gerepliceerd wordt, duiden deze resultaten er op dat dragers van het G risico allel goed zouden kunnen profiteren van behandeling met een GLP-1 agonist of dipeptidyl-IV remmers, hetgeen nieuwe mogelijkheden biedt voor therapie. Het *ADAMTS9* risico allel was geassocieerd met een hogere dispositie index in tegenstelling tot de risico allelen voor *BCL11A* en *MTNR1B* die significant geassocieerd waren met een verminderde dispositie index. Zeven van de 12 risico allelen in de onlangs ontdekte diabetes mellitus type 2 loci toonden geen associatie met enig β -cel functie parameter. Wij concludeerden dat diabetes mellitus type 2 risico allelen in *CDC123/CAMKID*, *THADA*, *ADAMTS9*, *BCL11A* en *MTNR1B* zijn geassocieerd met specifieke aspecten van de β -cel functie. Deze bevindingen duiden op een duidelijke diversiteit van de impact die deze verschillende gen varianten kunnen hebben op de (dys)functie van de β -cellen van de pancreas.

Suggesties voor verder onderzoek

Tijdens deze tweeling-familie studie is een omvangrijke hoeveelheid data verkregen, waarvan slechts een deel kon worden geanalyseerd en in dit proefschrift is beschreven. Het is belangrijk dat deze waardevolle data (waaronder serum monsters in de diepvries, metingen van hartritme, ademhaling en bloeddruk, voedsel consumptie vragenlijsten) gebruikt worden voor verder onderzoek. Deze toekomstige analyses kunnen mogelijk onthullen in welke mate genetische en omgevingsfactoren bijdragen aan de individuele variatie in hormoon secretie gedurende een maaltijd (m.n. proinsuline, incretines en glucagon). Tevens kan zo onderzocht worden of er een relatie bestaat tussen reacties van het autonome zenuwstelsel en de β -cel functie gedurende een maaltijd en clamp test en of genetische factoren daarbij een rol spelen. De voedingsvragenlijsten geven de mogelijkheid om de relatie te onderzoeken tussen de consumptie van verschillende nutriënten en de β -cel functie. Het gebruik van zoveel mogelijk onderzoeksgegevens, verzameld tijdens mijn research in de afgelopen jaren, zal hopelijk bijdragen aan een verdieping van de kennis over de ontwikkeling van diabetes mellitus type 2. Met het oog op de enorme impact van deze ziekte op het dagelijks leven van een steeds groter wordende groep mensen, kan veel vooruitgang geboekt worden als we de primaire preventie kunnen verbeteren en onze behandel strategieën optimaliseren.