

# VU Research Portal

## Metabolic imaging in gluco-lipotoxic heart and liver disease in type 2 diabetes

Rijzewijk, L.J.

2011

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Rijzewijk, L. J. (2011). *Metabolic imaging in gluco-lipotoxic heart and liver disease in type 2 diabetes*.

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

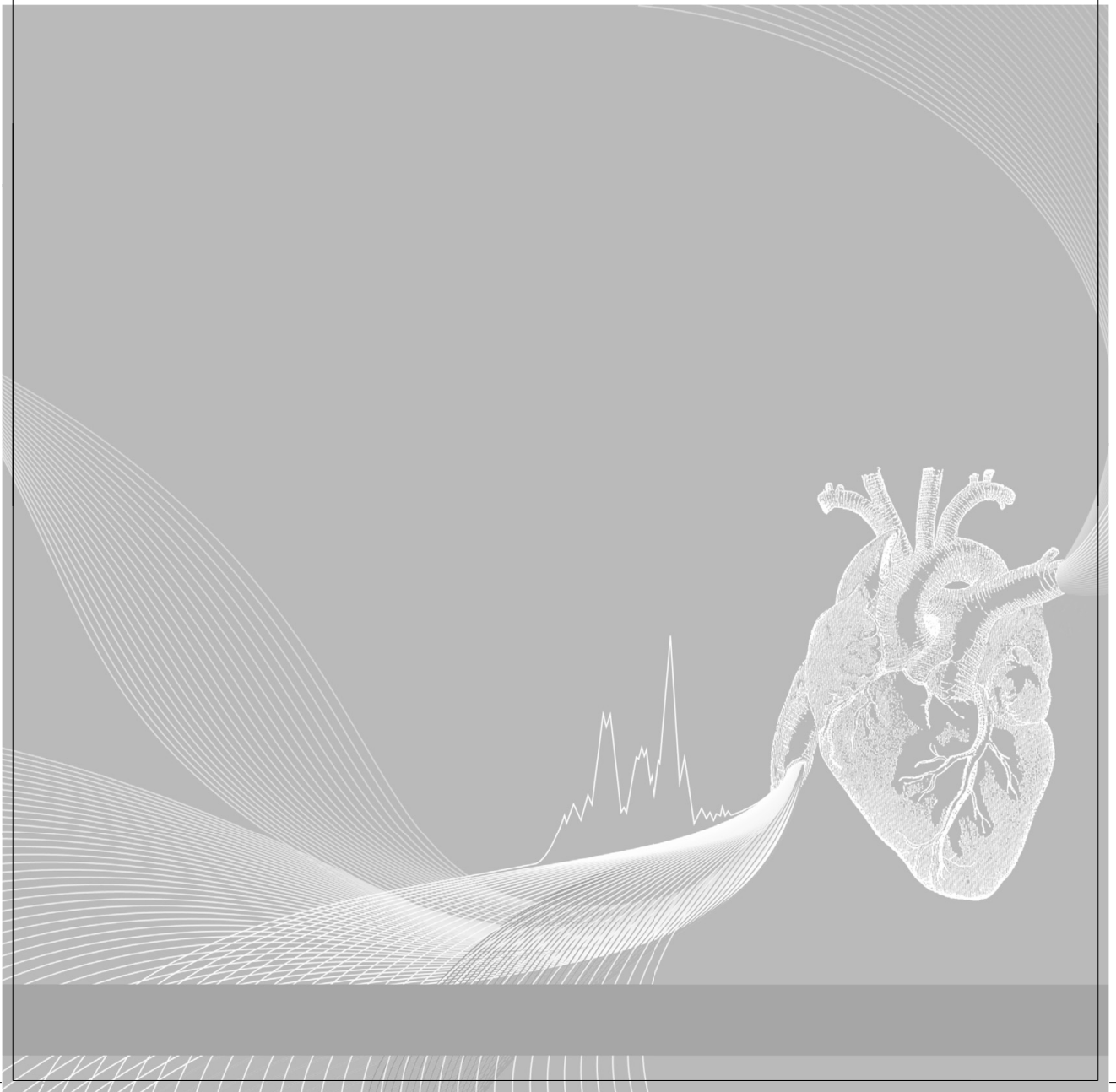
### **Take down policy**

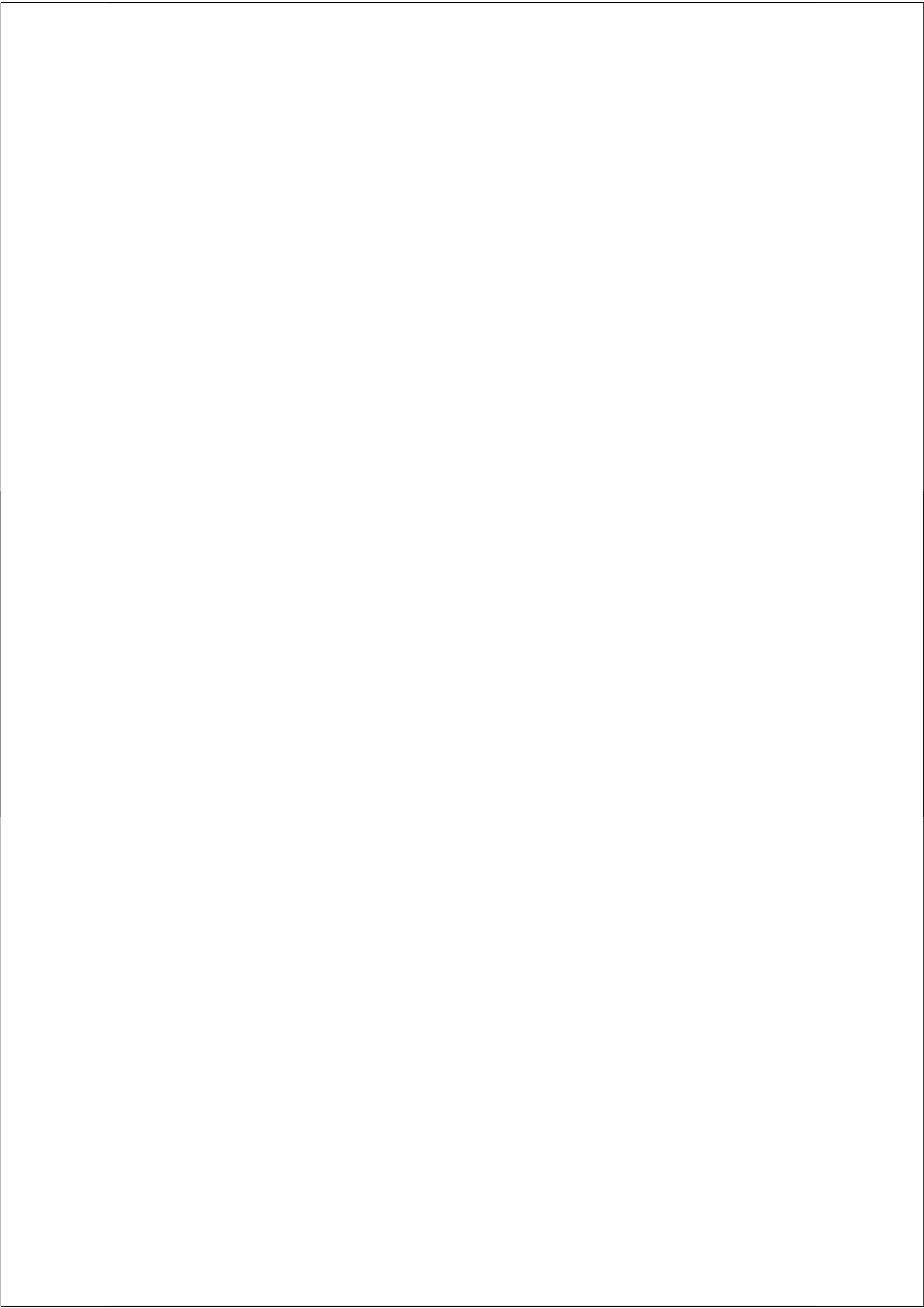
If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## Samenvatting





Type 2 diabetes mellitus (T2DM) heeft wereldwijd epidemische proporties aangenomen. Mortaliteit in T2DM patiënten is toegenomen en cardiovasculaire ziekten, in het bijzonder hartfalen, is een prominente oorzaak. Alhoewel coronaire hartziekten en hypertensie de belangrijkste oorzaken zijn voor hartfalen, bestaat er een significante groep T2DM patiënten welke hartfalen ontwikkelt zonder coronair lijden of hypertensie; een aandoening aangeduid als 'diabetische cardiomyopathie' (DCM). Verschillende mechanismen zijn voorgesteld welke leiden tot DCM. De meeste gegevens komen van dier modellen, omdat studies in mensen beperkt zijn vanwege voor de hand liggende beperkingen en ethische afwegingen. Met de introductie van niet invasieve beeldvormende technieken, waaronder positron emission tomography (PET), weefsel Doppler echocardiografie en magnetic resonance imaging (MRI) en spectroscopie (MRS), is het niet invasieve onderzoek naar het humane hart mogelijk geworden. Dit is met name relevant, aangezien verondersteld wordt dat een van de belangrijkste oorzaken van DCM een veranderd substraat metabolisme van het hart is, hetgeen aanleiding geeft tot gluco-lipotoxiteit. Gluco-lipotoxiteit verwijst naar het schadelijke effect van een veranderd glucose en vrij vetzuur metabolisme, hetgeen de aanleiding vormt tot ongunstige metabole veranderingen, waaronder steatose, de vorming van toxische tussenproducten, oxidatieve stress, mitochondriële disfunctie met als resultaat apoptose en uiteindelijke weefsel schade en orgaan disfunctie.

Glucose-lipotoxiteit is niet beperkt tot het hart, maar gesuggereerd wordt dat het aanwezig is in diverse organen waaronder de lever, skeletspierweefsel en de pancreas eilandjes, hetgeen aanleiding geeft tot een verminderde totale lichaams en lever insuline gevoeligheid en  $\beta$ -cel disfunctie van het pancreas. Dat dit inderdaad het geval is, blijkt uit het feit dat leververvetting bij insuline resistentie en diabetes geassocieerd is met veel cardio-metabole afwijkingen waarvan bekend is dat deze het cardiovasculaire risico ongunstig beïnvloeden. Daarnaast verhoogt leververvetting ook het risico op non-alcoholische fatty liver disease (NAFLD), non-alcoholische steato-hepatitis (NASH), cryptoge fibrose, cirrose, leverfalen en hepatocellair carcinoom..

De gluco-lipotoxiteit hypothese komt voort uit werk in diermodellen, hetgeen vaak wordt geëxtrapoleerd naar de humane situatie, ondanks dat er veel verschillen bestaan tussen mens en dier, maar ook omdat er weinig direct bewijs uit humaan onderzoek beschikbaar is. Het doel van het huidige proefschrift was derhalve hart- en lever metabolisme te fenotyperen in patiënten zonder ischemische hartziekten en zonder complicaties van T2DM en tevens om hartmetabolisme te relateren aan hartfunctie. Er werd gekozen voor patiënten zonder ischemische hartziekten en zonder complicaties van T2DM, omdat het bekend is dat co-morbiditeit, zoals cardiale ischemie en autonome neuropathie, metabolisme en de LV functie beïnvloeden. Daarnaast werd het effect van behandeling met pioglitazon versus metformine onderzocht op hart en lever metabolisme, het gehalte aan cardiale en lever triglyceriden en LV functie en geometrie. Pioglitazon is een thiazolidinedione en werkt via activatie van specifieke kernreceptoren, ook wel peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) genaamd. Pioglitazon verhoogd de insuline gevoeligheid en heeft anti-steatotische eigenschappen. Zorgen rondom de veiligheid van pioglitazon zijn voortgekomen uit de PRO-ACTIVE studie, welke een verhoogde incidentie liet zien van niet fataal hartfalen. Metformine is een biguanide, welke werkt via AMP-activated protein kinase (AMPK), de glucoseneogenese remt en de insuline gevoeligheid verhoogd. In de UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) werd aangetoond dat metformine het cardiovasculair risico verlaagd, al is weinig bekend over het werkingsmechanisme van AMPK op het hart van de diabetes patiënt. Derhalve werd de PIRMAMID (Pioglitazone Influence on tRiglyceride Accumulation in the Myocardium In Diabetes) studie ontworpen, een 24 weken durend prospectief gerandomiseerd, dubbel-blind, dubbel-placebo opgezet interventie onderzoek, met actieve comparator. Deze studie werd uitgevoerd in twee academische centra.

---

Naast T2DM patiënten werden gezonde vrijwilligers geïnccludeerd, waarvan de gezonde vrijwilligers alleen aanvangst metingen ondergingen. Voor en na 24 weken interventie werd met behulp van PET hart en lever perfusie gemeten, waarbij gebruik gemaakt werd van [<sup>15</sup>O]H<sub>2</sub>O voor de perfusie van het hart. De glucose opname werd gemeten door gebruik te maken van [<sup>18</sup>F]-2-fluoro-2-deoxy-D-glucose ([<sup>18</sup>F]FDG) en vetzuur opname middels [<sup>11</sup>C]palmitaat. β-oxidatie (MFAO) en esterificatie (MFAE) middels [<sup>11</sup>C]palmitaat werd alleen bepaald in het hart en niet in de lever, aangezien betrouwbare mathematische modellen nog niet ontwikkeld zijn voor de lever.

In **hoofdstuk 1** werd het concept van DCM geïntroduceerd met een focus op metabole veranderingen welke aanleiding geven tot hartziekten. De rol van een veranderd substraat metabolisme, lipotoxiciteit, glucose toxiciteit en oxidatieve stress, en een veranderde calcium homeostase werden beschreven. Dit tezamen met functionele veranderingen in het diabetische hart en niet invasieve methoden voor het meten van hartmetabolisme en -functie in mensen. Er werd betoogd dat er weinig en inconsistente gegevens bestaan over humane hartstofwisseling en dat er een gebrek is aan studies welke onderzoek doen naar de vraag in welke mate (veranderd) metabolisme en hartfunctie aan elkaar gerelateerd zijn. Een ander punt dat werd gemaakt is dat er momenteel geen behandeling wordt geadviseerd, los van een gezonde levensstijl en adequate glucose regulatie, omdat er geen harde gegevens beschikbaar zijn aangaande een metabole benadering voor de behandeling van DCM.

In **hoofdstuk 2** werd het gehalte aan myocardiale triglyceriden en hartfunctie tussen T2DM patiënten en gezonde controles met een gelijke body-mass index en leeftijd vergeleken, en tevens de associatie tussen myocardiale triglyceriden en hartfunctie onderzocht. Het gehalte myocardiale triglyceriden was significant hoger in T2DM patiënten in vergelijking met controles. Daarnaast was de LV diastolische functie, maar niet de systolische functie, verminderd in T2DM patiënten in vergelijking met controles. Multivariabele analyse toonde aan dat het gehalte aan myocardiale triglyceriden onafhankelijk geassocieerd was met de verschillende maten van LV diastolische functie. Een causale relatie tussen toegenomen myocardiale triglyceriden en verminderde LV functie kon echter niet vastgesteld worden.

In **hoofdstuk 3** werd hartsubstraat en hoog energetisch fosfaat (HEP) metabolisme in T2DM en controles van gelijke leeftijd onderzocht. Daarnaast werd de associatie tussen LV functie en metabolisme geëvalueerd. Patiënten hadden een verminderde LV diastolische vullingdynamiek en een lagere glucose opname. De vetzuur opname en oxidatie van het hart waren daarentegen toegenomen. Er werden geen verschillen gevonden in HEP metabolisme of de perfusie van het hart en tevens geen associaties tussen LV diastolische functie en hart substraat of HEP metabolisme. Dit was de eerste niet invasieve humane studie waarin hart perfusie en metabole metingen werden gecombineerd, waarbij het hart metabolisme in T2DM patiënten in vergelijking met gezonde controles van gelijke leeftijd werden gefenotypeerd. In tegenstelling tot de verwachtingen, welke gebaseerd waren op gegevens uit dierstudies, werden er geen associaties gevonden tussen hartmetabolisme en geen enkele parameter van LV functie in T2DM patiënten.

In **hoofdstuk 4** werden de resultaten beschreven van 24 weken behandeling met pioglitazon 30 mg/dag versus metformine 2000 mg/dag. Een totaal van 78 Kaukasische mannen werden geïnccludeerd, waarvan 71 patiënten de studie vervolmaakten. Geen van de patiënten ontwikkelde hartfalen. Beide therapieën hadden hetzelfde effect op de glykemische instelling, totale lichaamsge-

voeligheid voor insuline en bloeddruk. Pioglitazon in vergelijking met metformine verbeterde de diastolisch hartfunctie en LV compliantie. Pioglitazon in vergelijking met metformine verhoogde de myocardiale glucose opname, maar de aan pioglitazon gerelateerde diastolische verbeteringen waren niet geassocieerd met veranderingen in myocardiaal substraat metabolisme of veranderingen in LV functie. Omdat de veranderingen in hartmetabolisme en -functie niet gerelateerd waren in patiënten behandeld met pioglitazon, is het onwaarschijnlijk dat de verbeterde diastolische functie bewerkstelligd werd door het veranderde metabolisme. Metformine had geen effect op de hartfunctie, maar verlaagde de cardiale arbeid in vergelijking met pioglitazon, parallel aan een verminderde glucose opname en vetzuur oxidatie van het hart, maar met een toename in de plasma lactaat spiegel. De geobserveerde daling in het cardiale glucose en vetzuur metabolisme in de metformine groep, zou gerelateerd kunnen zijn aan een toegenomen lactaat utilisatie, maar ook aan een behandeling gerelateerde reductie van de cardiale arbeid, omdat minder ATP gegenereerd hoefde te worden ter handhaving van het hoog energetisch fosfaat metabolisme. Geen van beide behandelingen had invloed op het cardiaal hoog energetisch fosfaat metabolisme of het gehalte aan cardiale triglyceriden. Uit deze studie werd geconcludeerd dat behandeling met pioglitazon in patiënten met ongecompliceerde en goed ingestelde T2DM ziekte in de afwezigheid van cardiale ischemie gunstig kan zijn, hetgeen aangetoond werd met een verbeterde LV diastolische functie en compliantie, zonder veranderingen in cardiaal hoog energetisch fosfaat metabolisme.

In **hoofdstuk 5** werden de eerste twee delen van dit proefschrift overbrugd. Leververvetting is geassocieerd met een toegenomen risico op hart- en vaatziekten. In dit hoofdstuk werd het effect van het gehalte triglyceriden op hart metabolisme en functie onderzocht. Patiënten werden hiertoe verdeeld in een laag (T2DM-laag) en hoog (T2DM-hoog) levervet gehalte, gebaseerd op een lever triglyceriden gehalte van 5.6%. Nevens een afgenomen totale lichaamsgevoeligheid voor insuline, hadden T2DM-hoog patiënten afgenomen cardiale perfusie, glucose opname en PCr/AP ratio in vergelijking met T2DM-laag patiënten, terwijl het cardiaal vetzuur metabolisme en de LV functie niet waren veranderd. Het percentage triglyceriden gehalte correleerde invers met de totale lichaamsgevoeligheid voor insuline, de myocardiale glucose opname en PCr/ATP. Insuline gevoeligheid correleerde positief met de myocardiale glucose opname en (niet significant) met myocardiaal PCr/ATP. De langdurige klinische implicaties van de associatie tussen een toegenomen lever triglyceriden gehalte en een veranderd hart metabolisme verlangd verdere studies in T2DM.

In **hoofdstuk 6** werd de relatie tussen lever triglyceriden gehalte en lever perfusie en metabolisme onderzocht. Zowel gezonde controles en T2DM patiënten werden geïncludeerd, waarbij de T2DM patiënten wederom werden ingedeeld in een hoog en laag lever triglyceriden groep. T2DM-hoog hadden de hoogste BMI, slechtste glykemische controle en de laagste totale lichaamsgevoeligheid voor insuline. In vergelijking met controles en T2DM-laag patiënten hadden de T2DM-hoog patiënten de laagste lever parenchym perfusie en insuline gestimuleerde glucose opname. De waargenomen vermindering van de hepatische vetzuur influx constante was echter net niet significant. Significante inverse associaties werden gevonden tussen het gehalte lever triglyceriden en lever perfusie, glucose en vetzuur opname. De resultaten van deze studie suggereerden een potentieel modulerend effect van lever steatose op lever fysiologie.

In **hoofdstuk 7** werd het effect geëvalueerd van 24 weken behandeling met pioglitazon 30 mg/dag in vergelijking met metformine 2000 mg/dag op lever triglyceriden gehalte, parenchym perfusie en metabolisme. Beide therapieën verbeterde de glykemische controle en totale lichaamsgevoelig-

---

heid voor insuline. Alleen pioglitazon reduceerde het gehalte lever triglyceriden. Pioglitazon, maar niet metformine, verhoogde de insuline gemedieerde glucose opname en parenchym perfusie in de lever vanaf aanvang van de studie. Geen van beide behandelingen beïnvloedde de lever vetzuur influx constante.

**Hoofdstuk 8 & 9** zijn methodologie hoofdstukken en beslaan het derde gedeelte van dit proefschrift. In **hoofdstuk 8** werden verschillende kinetische modellen ter analyse van myocardiaal [<sup>11</sup>C] palmitaat geëvalueerd. Deze studie werd verricht, omdat verschillende modellen ter beschrijving en kwantificering van [<sup>11</sup>C]palmitaat kinetiek zijn beschreven, zonder dat er systematische analyses gedaan zijn ter definiëring van het meest geschikte model. In deze studie werden een totaal van 21 plasma input modellen, bestaand uit 1 tot 3 compartimenten en tot 6 vrije snelheidsconstanten, vergeleken waarbij gebruik werd gemaakt van statistische analyses van klinische gegevens en simulaties. Hiertoe werden van 14 gezonde vrijwilligers scans gemaakt met [<sup>11</sup>C]palmitaat, en tevens [<sup>15</sup>O]H<sub>2</sub>O voor de meting van hartperfusie. Modellen waarin een oxidatieve weg werd meegenomen, welke de productie van [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> voorstelt, gaven een significant betere beschrijving van de data dan andere modellen. De robuustheid van het model werd verbeterd na fixatie van [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> aan de oxidatie snelheid. Gebaseerd op de accuraatheid van de gegevensbeschrijving en het aantal vrije parameters, werd het 3 compartimenten model met 3 vrije snelheidsconstanten gekozen als het voorkeursmodel voor het beschrijven van [<sup>11</sup>C]palmitaat kinetiek in termen van oxidatie en vetzuur accumulatie in weefsel.

In **hoofdstuk 9** werd slagvolume (SV) middels [<sup>15</sup>O]H<sub>2</sub>O met een eerste passage dynamische PET meting vergeleken met cardiovasculaire MRI metingen in 59 deelnemers met verschillende gradaties van hartfunctie. De vergelijking werd gemaakt voor zowel de rechter als linker ventrikel (RV versus LV) afgezet tegen aorta snelheid gecodeerde fase contrast cardiovasculaire MRI. Het met PET geschatte SV was hoger voor de RV dan voor de LV. Bland-Altman analyse onthulde een progressieve overschatting met een toegenomen SV gemeten in beide ventrikels. Er werd geconcludeerd dat eerste passage dynamische PET metingen met [<sup>15</sup>O]H<sub>2</sub>O voor de meting van SV mogelijk is. Alhoewel metingen progressief overschat werden met een toegenomen SV, vooral wanneer de RV werd gebruikt, en correlaties met de aorta snelheid gecodeerde fase contrast cardiovasculaire MRI matig waren, is dit waarschijnlijk protocol gerelateerd.

**Hoofdstuk 10** is een overzichtsartikel waarin de vraag werd gesteld of gluco-lipotoxiciteit bestaat als een belangrijk mechanisme waardoor de LV functie uiteindelijk in het gedrang komt in het niet ischemische hart van patiënten met ongecompliceerde T2DM. Dit hoofdstuk was derhalve een kritische discussie, waarin de hoofdstukken 2 t/m 5 geïntegreerd werden in de context van de huidige literatuur. In dit overzichtsartikel werd een humaan perspectief gekozen met de focus op functionele, structurele en metabole aspecten van het diabetische hart. Huidige ideeën aangaande de pathofysiologie van DCM werden kritisch beschouwd en in perspectief geplaatst, gebruik makende van data van dierstudies en traditionele inzichten over DCM, rekening houdend met gender en etniciteit specifieke gegevens. Het overzichtsartikel eindigde met een beschrijving van de huidige beschikbare medicatie voor T2DM en specifiek het effect van deze medicatie in DCM.

## Toekomstig onderzoek

In dit proefschrift beschreven wij de fenotypering van het niet-ischemische humane T2DM hart en de lever, en tevens het effect van pioglitazon in vergelijking met metformine op hart en lever metabolisme en hartfunctie. Met het voortschrijden van de obesitas en diabetes epidemie, ontstaat er tegelijkertijd een toename in morbiditeit en mortaliteit door cardiovasculaire- en leveraandoeningen. Effectieve en veilige behandelingen zijn derhalve noodzakelijk. De ontwikkeling van deze behandelingen kunnen echter alleen ontwikkeld worden als er een grondige kennis bestaat van de pathofysiologie welke leidt tot DCM en leverziekten in diabetes, temeer omdat gegevens van dier modellen belangrijke limitaties hebben. Alhoewel de huidige onderzoeken in Kaukasische mannen van middelbare leeftijd waardevol zijn door de gedetailleerde fenotypering van het hart- en levermetabolisme in rust, limiteert de inclusie van deze populatie de generaliseerbaarheid. Andere relevante populaties waaronder vrouwen met T2DM, mannen en vrouwen met T1DM, T2DM patiënten met verschillende etnische achtergronden, individuen met pre-diabetes en patiënten met een langer bestaande diabetes en hartziekten zouden dezelfde grondige onderzoeken moeten ondergaan. Tevens zou het effect van interventies waaronder aanpassing van de levensstijl, zoals dieet en lichaamsbeweging, maar ook de invloed van cardiale (farmacologische) stress op hartfunctie en metabolisme verder onderzocht moeten worden. Een grotendeels onontgonnen onderzoeksgebied betreft het effect van diabetes duur op hartmetabolisme en hoe deze veranderingen gerelateerd zijn aan de hartfunctie gedurende de ziekte, en tevens met de bijkomende interactie van zich ontwikkelende complicaties en co-morbiditeit. Toekomstig onderzoek zou zich moeten richten op deze vragen en hopelijk uiteindelijk resulteren in de ontwikkeling van gerichte behandelingen voor verschillende groepen patiënten in de verschillende stadia van de ziekte diabetes.