

# Intervention strategies in the glycation pathway with methylglyoxal as the primary target

Citation for published version (APA):

van den Eynde, M. D. G. (2024). *Intervention strategies in the glycation pathway with methylglyoxal as the primary target*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20240326me>

## Document status and date:

Published: 01/01/2024

## DOI:

[10.26481/dis.20240326me](https://doi.org/10.26481/dis.20240326me)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## 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.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## Nederlandse samenvatting

Advanced glycation endproducts (AGE's) en dicarbonylverbindingen spelen een belangrijke rol in de ontwikkeling en voortgang van chronische metabole ziekten. In dit proefschrift hebben we verschillende interventiestrategiën onderzocht in klinische (humane) studies om te kijken of we deze AGE's en dicarbonyls kunnen verlagen. Met name gewichtsverlies door calorische restrictie, lichamelijke activiteit en farmaceutische interventies met flavonoïden en pyridoxamine zijn beschreven in dit proefschrift.

### AGE's en dicarbonyls in obesitas

Obesitas is geassocieerd met verhoogde concentraties van dicarbonyls, voornamelijk veroorzaakt door verhoogde suikerwaarden. Dicarbonyls kunnen reageren met aminozuren uit eiwitten, lipiden en DNA, wat leidt tot de vorming van AGE's en bijgevolg verstoorde celfuncties en weefselschade. Deze schadelijke modificaties dragen bij aan de ontwikkeling van verschillende obesitas en diabetes gerelateerde problemen zoals insulineresistentie, microvasculaire pathologieën (zoals diabetische retinopathie en nefropathie) en cardiovasculaire ziekten. Een ernstige ontregeling van wit vetweefsel zorgt daarnaast voor een verhoogde productie van reactieve zuurstofradicalen (ROS) en een afname in glyoxalase-1 activiteit (GLO1, het enzymatisch detoxificatie systeem van methylglyoxaal). Beide dragen bij aan verhoogde dicarbonylstress. In dit proefschrift ligt een sterke focus op methylglyoxaal (MGO), de meeste reactieve dicarbonylverbinding die geassocieerd is met de ontwikkeling van diabetes.

In **hoofdstuk 2** hebben we vastgesteld dat postprandiale plasma MGO-, GO- en 3-DG concentraties aanzienlijk hoger waren bij mannen met abdominale obesitas in vergelijking met slankere mannen. Deze bevinding bevestigt eerder verzamelde gegevens van (morbide) obese vrouwen met diabetes. We beschreven dat grote hoeveelheden dicarbonyls herhaaldelijk worden geproduceerd tijdens postprandiale glucosepieken en verhoogd zijn bij obese mannen. Deze toename in dicarbonyls kan bijdragen aan complicaties die verband houden met obesitas; net daarom zijn preventieve interventies in deze populatie aangewezen.

Met uitzondering van Nε-(carboxymethyl)lysine (CML) waren de concentraties van AGE's in plasma en in de huid (gemeten met autofluorescentie) niet verschillend tussen slanke en obese individuen, wat zou kunnen wijzen op een beperkt effect op circulerende AGE's in deze fase van de pathologie. Dit sluit echter niet uit dat er geen AGE-ophoping is in weefsels van obese individuen. De afname van plasma CML bij obese mannen (hoofdstuk 2) is in overeenstemming met de opname van CML in vetweefsel bij obesitas, zoals eerder beschreven.

## Gewichtsverlies

Onze studie in **hoofdstuk 2** toonde aan dat gewichtsverlies in een populatie met abdominale obesitas de dicarbonylstress verminderde, vooral de postprandiale niveaus. Plasma dicarbonyls zakten tot het niveau van slanke individuen. Op dezelfde wijze werd ook proteïnegebonden N $\epsilon$ -(carboxyethyl)lysine (CEL) verminderd, maar andere AGE's werden niet beïnvloed door de interventie.

Onze studie kon bevestigen dat het effect op glucosewaarden een groot deel van de verlaging van dicarbonyls verklaart. Het is ook mogelijk dat calorierestrictie het glyoxalase-systeem kan activeren, mogelijk via activatie van Nrf2, hoewel we geen aanwijzingen vonden voor dit onderliggende mechanisme. Een toename van ketolichamen zoals acetoacetaat en  $\beta$ -hydroxyboterzuur, die MGO kunnen opruimen, zijn andere mogelijke redenen voor de afname in dicarbonyls.

## Fysieke activiteit

De resultaten van fysieke activiteit op dicarbonyls en AGE's blijken complexer om te interpreteren. Een vermindering van sedentaire tijd en een toename van algemene fysieke activiteit zijn sterk geassocieerd gebleken met insulinegevoeligheid, terwijl verhoogde lichamelijke oefening meestal wordt geassocieerd met vasculaire gezondheid.

Echter, menselijke studies die het effect van lichaamsbeweging op dicarbonylstress of AGE's beoordelen, hebben tegenstrijdige resultaten opgeleverd. Specifieke intensiteit en duur van de oefeningen, naast populatieverschillen, zijn een mogelijke verklaring voor de waargenomen tegenstrijdigheden. In **hoofdstuk 3** toonden we aan dat actieve individuen hogere niveaus van plasma CML hadden dan sedentaire individuen. Bovendien vonden we een positieve associatie tussen CML en VO<sub>2</sub>-max. Het is mogelijk dat lichaamsbeweging weefselherstel bevordert en de afbraak van crosslinks in de vaatwand stimuleert. Dit kan leiden tot hogere niveaus van circulerende (proteïne-gebonden) AGE's. Daarnaast kunnen een hoger metabolisme en een hogere energie-inname, resulterend in hogere AGE niveaus via vorming en inname, ook een verklaring zijn.

Bovendien toonden we aan dat intervaltraining met hoge intensiteit (HIIT) geen materiële veranderingen teweegbracht in plasma dicarbonyl of AGE concentraties.

## Flavonoïden

In **hoofdstuk 4** hebben we aangetoond dat de flavonoïde quercetine leidde tot een verlaging van plasma MGO bij (pre)hypertensieve volwassenen. Er werden geen significante effecten waargenomen voor AGE's. De toediening van epicatechine resulteerde niet in significante dalingen van dicarbonyls of AGE's. Deze bevindingen

waren in lijn met eerder experimenteel werk dat aantoonde dat quercetine circulerend MGO kon verlagen. Eerdere bevindingen dat quercetine of epicatechine ook de vorming van AGE's remmen, konden we niet reproduceren. Quercetine oefent waarschijnlijk zijn verlagende effect op MGO-niveaus uit via het biochemisch opruimen aangezien we geen effecten op glucosewaarden of glyoxalase-1 activiteit vonden. Meerdere experimentele studies hebben ongeconjugeerde vormen van flavonoiden of suprafysiologische doseringen gebruikt, wat de verschillen met experimentele modellen kan verklaren. Bovendien vonden we in dezelfde studie dat suppletie met quercetine significant leidde tot een afname van sE-selectine, IL-1 $\beta$  en een z-score van ontstekingsmarkers. Helaas ontbrak het ons aan statistische kracht om een mogelijk effect van MGO-vermindering door quercetine op de ontstekingsmarkers te bestuderen.

## Pyridoxamine

Pyridoxamine is een B6-vitameer die in experimentele studies in staat bleek om MGO-concentraties te verlagen en de vorming van AGE's te remmen. Humane interventiestudie die de rol van pyridoxamine in de preventie van metabole en vasculaire disfunctie onderzoeken, ontbraken tot op heden. In ons klinisch onderzoek, beschreven in **hoofdstuk 5 tot en met 8**, hebben we het effect van pyridoxamine bestudeerd bij individuen met overgewicht.

In **hoofdstuk 6** hebben we een methode geoptimaliseerd en gevalideerd voor de kwantificering van vitamine B6 in plasma en urine met behulp van UPLC-MS/MS. Na een metabolisatie-experiment hebben we aangetoond dat pyridoxamine supplementen mogelijk een voordeel bieden ten opzichte van de huidige B6-supplementen. We toonden aan dat pyridoxamine-inname resulteerde in hoge niveaus van pyridoxal 5'-fosfaat, de biologisch actieve vorm van vitamine B6. De vorming van pyridoxine was minimaal. Pyridoxine is momenteel het meest gebruikte B6-supplement en is de belangrijkste oorzaak van vitamine B6-toxiciteit. Hoge niveaus van pyridoxine zijn neurotoxisch en deze vorm van B6 is ook een competitieve remmer van pyridoxaal 5'-fosfaat. Gecombineerd met de gegevens van hoofdstuk 7 kan dit pyridoxamine aantrekkelijker maken als supplement voor zowel de behandeling van metabole ziekten als vitamine B6-tekort. Vanwege de snelle metabolisatie moet worden opgemerkt dat de drie dagelijkse dosissen resulteerden in een meer constante plasmaconcentratie gedurende de dag.

In **hoofdstuk 7** toonden we aan dat pyridoxamine effectief de plasmaniveaus van MGO en MGO-afgeleide AGE N $\delta$ -(5-hydro-5-methyl-4-imidazolone-2-yl)-ornithine (MG-H1) verminderde. De afname in MGO was dosisafhankelijk, waarbij de hoge dosering van pyridoxamine leidde tot een 9% vermindering van plasma MGO vergeleken met de baselinewaarden. Hoewel deze afname bescheiden lijkt, is deze vergelijkbaar met

eerdere studies (onder andere gewichtsverlies en quercetine). Bovendien observeerden we een niet-significante afname van andere AGE's. Pyridoxamine toonde echter geen verbetering van insulinegevoeligheid of vaatfunctie in onze studie. Op basis van onze eerdere dierproeven verwachtten we enig positief effect op glucosemetabolisme, insulinegevoeligheid of microvasculaire functie te vinden. Een mogelijke verklaring voor deze nulresultaten is dat muizen gevoed met HFD een extremer model zijn en de dosering van pyridoxamine in onze dierenstudie vijf keer hoger was in vergelijking met de hoogste dosering in onze klinische studie. Het behandel-effect in onze overgewichtspopulatie was waarschijnlijk te laag om functionele uitkomsten te beïnvloeden. Wel opmerkelijk was de significante afname van plasmamarkers van endotheel-disfunctie, met name oplosbare vasculaire celadhesiemolecuul-1 (sVCAM-1) en oplosbaar intercellulair adhesiemolecuul-1 (sICAM-1).

In **hoofdstuk 8** toonden we aan dat arteriële stijfheid niet werd beïnvloed door pyridoxamine behandeling gedurende de periode van acht weken. Arteriële stijfheid werd grondig onderzocht met bepaling van onder andere carotis distensibiliteit, polsgolfsnelheid en de intima-media-dikte van de carotis. Het effect van pyridoxamine op MGO en AGE's was waarschijnlijk te klein om effecten op arteriële stijfheid te veroorzaken binnen de termijn van de studie.

## Conclusie

Zowel gewichtsverlies, pyridoxamine, als quercetine laten ongeveer een 10% daling zien in plasma MGO, vergezeld van positieve effecten op markers van ontsteking en endotheel-disfunctie. Pyridoxamine toont ook een vermindering van AGE's, echter zonder effecten op insulinegevoeligheid of vaatfunctie. Fysieke activiteit laat in onze studie geen verbetering zien in relatie tot dicarbonyls of AGE's.

Associaties tussen dicarbonyls, AGE's en metabole ziekten zijn overvloedig beschreven in de literatuur. Op basis van de studies beschreven in dit proefschrift weten we dat het mogelijk is om effectief MGO te verlagen bij ogenschijnlijk gezonde individuen met overgewicht. De vraag blijft wat het behandel-effect van deze interventies op methylglyoxaal moet zijn om op de lange termijn een verbetering of preventie van het ziekteproces te kunnen opleveren.