

# The glycation pathway in type 2 diabetes and cardiovascular disease

## Citation for published version (APA):

Engelen, L. (2012). *The glycation pathway in type 2 diabetes and cardiovascular disease*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Ipskamp Drukkers B.V., Enschede. <https://doi.org/10.26481/dis.20121012le>

## Document status and date:

Published: 01/01/2012

## DOI:

[10.26481/dis.20121012le](https://doi.org/10.26481/dis.20121012le)

## 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.

## SAMENVATTING

Diabetes is een veelvoorkomende stofwisselingsziekte die gekenmerkt wordt door hyperglykemie (verhoogde bloedsuikerspiegels) als gevolg van gebreken in de productie en/of de werking van insuline. Op dit moment lijden wereldwijd ongeveer 346 miljoen mensen aan diabetes en naar verwachting zal dit aantal toenemen naar 552 miljoen in 2030. In Nederland waren er, in 2007, 740.000 mensen met diabetes en naar verwachting zal dit aantal ook toenemen, naar 1.3 miljoen in 2025. Ongeveer 90% van alle mensen met diabetes heeft diabetes type 2. Hoewel diabetes type 2 vooral het gevolg is van verminderende insulinegevoeligheid, dat wil zeggen, weefsels worden minder gevoelig voor de metabole effecten van insuline, is de productie van insuline, door de bètacellen van de alvleesklier, ook defect bij deze patiënten en onvoldoende om te compenseren voor de insulineresistentie. Overgewicht en lichamelijke inactiviteit, die voornamelijk de gevoeligheid voor insuline beïnvloeden, worden beschouwd als de belangrijkste risicofactoren voor het ontstaan van diabetes type 2. De meest voorkomende gevolgen, of complicaties, van diabetes die zorgen voor een verhoogd risico op ziekte en sterfte bij mensen met diabetes zijn microvasculaire complicaties zoals retinopathie (oogaandoening), nefropathie (nieraandoening) en neuropathie (zenuwschade) en macrovasculaire complicaties zoals atherosclerose (aderverkalking). Volwassen mensen met diabetes ervaren bijvoorbeeld een tweevoudig verhoogd risico op hart- en vaatziekten en aan hart- en vaatziekten gerelateerde sterfte ten opzichte van mensen zonder diabetes en onderzoek naar potentiële mechanismen ter verklaring van dit verhoogde risico is daarmee van belang.

De mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van micro- en macrovasculaire complicaties (door hyperglykemie) bij mensen met diabetes zijn niet geheel duidelijk, maar de verhoogde versuikering van eiwitten en de daarmee gepaard gaande productie van vergevorderde glyceringsproducten [EN: advanced glycation endproducts (AGE's)] beslaat een mogelijk mechanisme. In dit proefschrift hebben wij dit betiteld als de glyceringsroute (EN: the glycation pathway). Tot dusver is het bewijs voor de rol van de glyceringsroute in (aan diabetes gerelateerde) hart- en vaatziekten voornamelijk afkomstig van (dier)experimentele studies. Het doel van dit proefschrift was dan ook om, in een aantal epidemiologische studies, mogelijke interventies in de glyceringsroute te evalueren (*deel 1*) en de rol van de glyceringsroute in het ontstaan van hart- en vaatziekten (*deel 2*) bij mensen met of zonder diabetes type 2 te onderzoeken.

*Hoofdstuk 1* introduceert het onderzoek in dit proefschrift en geeft achtergrondinformatie over diabetes (in het bijzonder diabetes type 2), over aan diabetes gerelateerde micro- en macrovasculaire complicaties en de mogelijke rol van de glyceringsroute (versuikering van eiwitten) hierin.

### DEEL 1: INTERVENTIES IN DE GLYCERINGSROUTE

*Hoofdstuk 2* geeft een samenvatting van de huidige literatuur met betrekking tot mogelijke AGE's-remmende effecten van verschillende therapieën, hetzij specifiek ontwikkeld voor remming van AGE's of ontwikkeld voor interventies los van op de glyceringsroute gebaseerde theorieën. Hoewel (dier)experimentele studies met betrekking tot de specifieke AGE's-remmer aminoguanidine en de AGE's-crosslinkbreaker alagebrium duidelijk gunstige effecten hebben laten zien, lijkt het erop dat de veiligheid en/of werkzaamheid in humane/klinische studies met deze interventies verontrustend zijn. Met betrekking tot andere therapieën ontwikkeld voor doeleinden die geen verband houden met versuikering van eiwitten, maar die AGE's-remmende effecten hebben laten zien in voorgaande *in vitro* en/of dierexperimentele studies, zoals de B-vitamines pyridoxamine en thiamine, het bloedsuikerverlagende medicijn metformine en de bloeddrukverlagende angiotensine receptor blokkers (ARB's), bleek het huidige bewijs vrij beperkt. Dit lijkt voornamelijk het gevolg van een grote heterogeniteit in de opzet van de verschillende tot op heden gepubliceerde studies en/of de hierin gebruikte

meettechnieken die vaak suboptimaal zijn geweest. Meer grote, specifieke en goed opgezette studies zijn nodig om hun potentiële AGE's-remmende effecten volledig op te helderen.

Gezien de overeenkomsten in structuur tussen het bloedsuikerverlagende medicijn metformine en de specifieke AGE's-remmer aminoguanidine, is er in de literatuur voorgesteld dat metformine kan zorgen voor detoxificatie van voorlopers van AGE's [zoals de dicarbonylverbindingen methylglyoxal en 3-deoxyglucosone (3DG)] op een vergelijkbare manier als aminoguanidine. Dit zou hiermee de gunstige effecten van metformine op hart- en vaatziekten bij diabetes type 2 gedeeltelijk kunnen verklaren. Eerdere (observationale) studies bij mensen met diabetes type 2 hebben inderdaad positieve 'effecten' aangetoond van metformine op een reeks van markers van de glyceringsroute. Hoewel het onderzoek in *Hoofdstuk 3* eveneens een daling [-19,3% (95% BI: -23,5 tot -14,8)] in bloedwaarden van de dicarbonylverbinding 3DG liet zien na behandeling met metformine bij niet-obese patiënten met diabetes type 2, vonden we, opmerkelijk genoeg, een vergelijkbare daling [-20,8% (-24,9 tot -16,3)] in 3DG niveaus na behandeling met een ander bloedsuikerverlagend medicijn, repaglinide. De verschillende werkingsmechanismen van de bloedsuikerverlagende effecten van metformine en repaglinide suggereren dus dat de verbetering van de glucosehuishouding, eerder dan een specifiek effect van metformine op de detoxificatie van dicarbonylverbindingen, resulteert in een afname van 3DG. Desalniettemin vonden we dat de zowel door metformine als door repaglinide geïnduceerde vermindering van 3DG samenhangt met een vermindering van markers van disfunctie van het endotheel (binnenbekleding van de bloedvaten) en als zodanig dus een metabole route kan vormen waarlangs beide behandelingen een gunstig effect hebben op het risico op hart- en vaatziekten in patiënten met diabetes type 2.

De remmende werking van ARB's op AGE's en op de gevolgen van AGE's, zoals dit eerder is aangetoond in verschillende *in vitro* en dierexperimentele studies, heeft tot de hypothese geleid dat deze AGE's-remmende effecten, wellicht voor een deel, de gunstige effecten van ARB's op het risico op hart- en vaatziekten bij patiënten met diabetes type 2 kunnen verklaren. Echter, hoewel een aantal eerder gepubliceerde kleine klinische studies, veelal zonder controlegroep, inderdaad dalingen hebben laten zien in AGE's in het bloedplasma of urine na behandeling met ARB's, vonden wij in de grote gerandomiseerde gecontroleerde klinische studie [EN: randomised controlled trial (RCT)] in *Hoofdstuk 4* geen effecten op bloedplasmaniveaus van de AGE's N<sup>E</sup>-(carboxymethyl)lysine (CML) en N<sup>E</sup>-(carboxyethyl)lysine (CEL) van twee jaar behandeling met de ARB irbesartan bij mensen met diabetes type 2. Onze bevindingen bevestigen de enige twee andere grote RCT's die dit tot nu toe hebben onderzocht en geen AGE's-remmende effecten vonden van behandeling met irbesartan of eprosartan (een andere ARB).

## DEEL 2: DE GLYCERINGSROUTE EN HART- EN VAATZIEKTEN

In *Hoofdstuk 5* worden referentie-intervallen gepresenteerd voor metingen van de dikte van de halsslagaderwand [EN: carotid intima-media thickness (CIMT)], een meting die, in zowel onderzoek als steeds meer ook in de klinische praktijk, gebruikt wordt als marker van atherosclerose maar waarvan zulk soort referentie-intervallen tot op heden ontbraken. Deze referentie-intervallen zijn vastgesteld op basis van een steekproef ( $n=24,871$ ) van samengevoegde CIMT data van gezonde proefpersonen eerder gemeten in 24 verschillende studiecentra wereldwijd. Verder hebben we in dit hoofdstuk relaties onderzocht tussen bekende risicofactoren voor hart- en vaatziekten enerzijds en het afwijken van de voorspelde 'normale' CIMT waarde voor een bepaalde leeftijd en geslacht anderzijds. Dit maakt een accurate vergelijking mogelijk van CIMT waarden binnen en tussen groepen met verschillende risicoprofielen, in het bijzonder met betrekking tot het ontwikkelen van hart- en vaatziekten, en helpt daarmee de interpretatie van dergelijke metingen verkregen zowel in onderzoek als in de klinische praktijk.

In *Hoofdstuk 6* hadden we de hypothese dat genetische variatie in het gen dat codeert voor glyoxalase 1 (GLO1; het snelheidsbepalende enzym in de detoxificatie van de voorlopers van AGE's methylglyoxal en glyoxal) de expressie en/of de activiteit van GLO1 kan beïnvloeden en als zodanig het genetisch bepaalde risico op hart- en vaatziekten kan beïnvloeden. Hiertoe hadden we negen veelvoorkomende enkel-nucleotide

polymorfismen [EN: single nucleotide polymorphisms (SNP's); variaties in het DNA van een enkele nucleotide lang] bepaald bij deelnemers van twee Nederlandse cohorten van mensen met een 'normaal' glucosemetabolisme, een gestoord glucose metabolisme of diabetes type 2 (de Hoorn en CODAM studies). Door het bepalen van deze negen SNP's konden we de totale veelvoorkomende genetische variatie in GLO1 onderzoeken. Echter, we vonden geen bewijs voor (consistente) relaties tussen de negen GLO1 SNP's enerzijds en de prevalentie van hypertensie (hoge bloeddruk), markers van atherosclerose (waaronder CIMT), stijfheid van de bloedvaten of nierfunctie anderzijds.

Eerdere studies hebben aangetoond dat genetische variatie in het gen dat codeert voor de receptor voor AGE's [EN: receptor for advanced glycation endproducts (RAGE)] de expressie en activiteit van RAGE en/of de affiniteit voor het binden van liganden aan deze receptor kan beïnvloeden. Ook RAGE SNP's zouden als zodanig het genetisch bepaalde risico op hart- en vaatziekten kunnen beïnvloeden. Tot dusver heeft onderzoek naar de relatie tussen RAGE SNP's enerzijds en hart- en vaatziekten anderzijds tegenstrijdige resultaten laten zien die mogelijk veroorzaakt zijn door verschillen tussen proefpersonen in onder andere het glucosemetabolisme (dat wil zeggen of zij diabetes type 1, diabetes type 2 of een 'normaal' glucosemetabolisme hebben). Onze bevindingen in *Hoofdstuk 7* ondersteunen deze hypothese van een invloed van het glucosemetabolisme op de relatie tussen RAGE SNP's enerzijds en hart- en vaatziekten anderzijds. Het onderzoek in dit hoofdstuk laat een beschermende rol op het gebied van bloeddruk en stijfheid van de bloedvaten zien van het AA genotype van RAGE SNP -374T/A bij mensen met een 'normaal' glucosemetabolisme, maar een schadelijk effect bij personen met een gestoord glucosemetabolisme of diabetes type 2.

Om de rol van de glyceringsroute in hart- en vaatziekten te onderzoeken, hebben we tenslotte bloedplasmaniveaus gemeten van zowel aan eiwit gebonden (CML, CEL en pentosidine) als vrij circulerende [CML, CEL en 5-hydro-5-methylimidazolone (MG-H1)] AGE's, wederom bij deelnemers van de Hoorn en CODAM studies. In *Hoofdstuk 8* vonden we echter geen (onafhankelijke) relaties tussen bloedplasmaniveaus van de eiwitgebonden en vrije AGE's enerzijds en prevalentie hart- en vaatziekten, of markers van atherosclerose (waaronder CIMT) anderzijds.

Kort gezegd hebben we in het onderzoek dat beschreven staat in dit proefschrift, geen bewijs gevonden voor (specifieke) AGE's-remmende effecten van het bloedsuikerverlagende medicijn metformine en ook niet van het bloeddrukverlagende medicijn irbesartan. Daarnaast vonden we geen (negatieve) verbanden van circulerende AGE's (gemeten in het bloedplasma) met HVZ of markers daarvan. Er moet echter worden benadrukt dat het op dit moment onzeker is of verhoogde bloedplasmaniveaus van AGE's de last van versuikering van eiwitten in de weefsels van mensen met of zonder diabetes type 2 adequaat weergeven. Het onderzoek beschreven in dit proefschrift ondersteunt dus niet noodzakelijkerwijs het ontbreken van een rol voor versuikering van eiwitten in aan diabetes (type 2) gerelateerde hart- en vaatziekten bij de mens, maar toont het belang aan van identificatie van (andere) valide markers die de last van versuikering van eiwitten in de weefsels wellicht beter weerspiegelen. Een dergelijke marker kan dan, naast zijn waarde in epidemiologische studies, bijvoorbeeld zoals beschreven in dit proefschrift, een mogelijk bruikbaar instrument zijn in de identificatie van individuen met een verhoogd risico voor het ontwikkelen van diabetes en/of hart- en vaatziekten.