

The very low-density lipoprotein-triacylglycerol pathway and metabolic heterogeneity in familial combined hyperlipidemia

Citation for published version (APA):

Georgieva, A. M. (2005). *The very low-density lipoprotein-triacylglycerol pathway and metabolic heterogeneity in familial combined hyperlipidemia*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20051103ag>

Document status and date:

Published: 01/01/2005

DOI:

[10.26481/dis.20051103ag](https://doi.org/10.26481/dis.20051103ag)

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

Take down policy

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

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Familial Combined Hyperlipidemia (FCHL) is a genetic disorder of lipid metabolism, defined as a familial hyperlipidemia with a variable expression, i.e. isolated hypercholesterolemia (Fredrickson IIa), combined hyperlipidemia (IIb), or isolated hypertriglyceridemia (IV), in combination with increased familial prevalence of premature myocardial infarction. Affected FCHL subjects exhibit a complex metabolic phenotype, which can feature elevated plasma insulin concentrations in the presence of insulin resistance, abdominal obesity, and hypertension. A clustered entity of elevated plasma triglycerides, low high-density lipoprotein (HDL) cholesterol and predominance of small dense LDL, commonly described as the atherogenic lipoprotein phenotype, is frequently observed in FCHL subjects. We have studied this adverse phenotype and its metabolic determinants in more detail.

There is evidence that the complex FCHL phenotype results, at least in part, from impaired fatty acid metabolism, associated with impaired fatty acid trapping for triacylglycerol synthesis in FCHL adipose tissue and increased fatty acid flux towards other organs. In muscle and liver fatty acid and their metabolites can accumulate and induce insulin resistance. For instance, there is evidence that glucose uptake in FCHL skeletal muscle responds insufficiently to insulin stimulation in relation to the rate of fatty acid supply. There is no literature data, however, to suggest that insulin resistance in liver contributes to FCHL expression. It is of interest to investigate this potential mechanism in FCHL, because hepatic lipoprotein production is a function of hepatic insulin sensitivity. For example, insulin normally suppresses hepatic production of Apo B-100 lipoproteins, especially the production of triglyceride-rich lipoproteins. Another factor that can affect hepatic lipoprotein production can be accumulation of fat in the liver (fatty liver).

The very-low density lipoprotein-triacylglycerol (VLDL-TG) pathway, which reflects the metabolism of Apo B-100 lipoproteins, carries most of plasma triglycerides in the fasting state. In this thesis, we show that alterations in the VLDL-TG pathway contribute to the varied expression of FCHL.

Very low-density lipoprotein (VLDL) and low-density lipoprotein (LDL) each consist of physicochemically and metabolically distinct subclasses. Our FCHL study sample showed a clear bimodal distribution of LDL size. About half of the subjects presented with large buoyant LDL, designated as “pattern A”. The other half had small dense LDL, or “pattern B” (*chapter 2*). Subsequently, we assessed whether pattern A or B associate with aggregate metabolic phenotypes. Subjects with predominantly large, buoyant LDL showed a hypercholesterolemic phenotype (Fredrickson IIa) and the highest Apo B levels. Subjects with predominantly small dense LDL showed a hypertriglyceridemic (Fredrickson IIb or IV), low HDL cholesterol phenotype, with moderately elevated Apo B, total cholesterol level, and LDL cholesterol level. The presence of increased numbers of VLDL1 particles accounted for the hypertriglyceridemia, and could explain the formation of sd LDL and the low HDL cholesterol in the latter subjects. Noteworthy, the amount of VLDL1-TG correlated positively with plasma insulin in pattern B FCHL subjects, which indicated that in these subjects hepatic (over)production of VLDL1-TG could result from insulin resistance. Therefore, the existence of distinct metabolic phenotypes in FCHL can relate to VLDL particle metabolism.

Factors that can lead to fat accumulation in liver have been reported in FCHL. These include increased fatty acid fluxes, and enhanced synthesis of fat in liver (lipogenesis *de novo*) due to activation of transcription factors in response to increased substrate availability and hyperinsulinemia. We examined the prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in FCHL patients referred to the outpatient clinics of the Maastricht University Hospital, by ultrasonography (*chapter 3*). We observed a substantial prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in FCHL patients, including all of those with elevated plasma triglyceride levels. Fatty liver can contribute to increased production of triglyceride-rich particles through increased availability of substrate for incorporation in VLDL.

We hypothesize that plasma lipoprotein phenotypes in FCHL can be determined by differences in metabolic profile between individuals, which can relate to insulin resistance and the presence or absence of fat accumulation in liver (*chapter 2, 3, 4 and 5*). These differences can result from environmental influences or genetic variants, or a combination of both. Future studies are needed to confirm this hypothesis.

Hyperlipidemic conditions have been associated with a prothrombotic state, but the nature of this association has not been well studied in FCHL. Therefore, we studied the

activity profile of the blood coagulation system, and its relationship to the lipid phenotypes in FCHL. All hyperlipidemic FCHL subjects exhibited a prothrombotic phenotype, including elevated levels of several factors of the coagulation system (*chapter 4*). This observation can be interpreted as an activation of the vascular endothelium in response to plaque burden and can relate to the observed susceptibility of premature acute coronary events in FCHL.

Increased plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) activity was specifically observed in hypertriglyceridemic FCHL subjects with features of the metabolic syndrome. Increase in PAI-1 activity indicates impaired fibrinolysis and may provide an additional cardiovascular risk factor in these subjects.

FCHL subjects exhibit a complex phenotype with a high prevalence of the metabolic syndrome. FCHL subjects with the full-blown metabolic syndrome typically showed numeric expansion of the plasma VLDL1 lipoproteins. VLDL1-TG was the major determinant of the variability of plasma triglycerides. (*chapter 5*). One explanation of VLDL1 plasma expansion in FCHL can be overproduction of VLDL1 that occurs against a background of insulin resistance. It is of interest that patients with type 2 DM, another disorder with high prevalence of the metabolic syndrome, exhibit hepatic production of much larger, lipid enriched VLDL1 particles than controls, as reported elsewhere. By contrast, VLDL1 particles in FCHL subjects were of normal size. Therefore, it is likely that biochemical and genetic differences in hepatic lipid metabolism exist between FCHL and other forms of the metabolic syndrome or at least subjects with type 2 DM. The molecular mechanisms of VLDL overproduction in FCHL remain to be evaluated.

Treatment with atorvastatin 40 mg per day, at bedtime, for 8 weeks effectively lowered plasma lipids in hypertriglyceridemic FCHL, without concomitant changes in surrogate markers of insulin resistance, such as plasma insulin, HOMA or plasma FFA concentrations (*chapter 6*). However, plasma triglycerides remained elevated (>2 mmol/L) upon therapy in most subjects, with no change in LDL size. HDL cholesterol levels improved but remained low on therapy. Atorvastatin reduced levels of cardiovascular risk markers, particularly PAI-1 and C-reactive protein (CRP). Noteworthy, no relationship was observed between changes in PAI-1, or CRP and lipid variables. Because of these pleiotropic effects, statins can be important in treatment of FCHL, especially coronary artery disease prevention.

Summary

Potentially, hypertriglyceridemic FCHL patients can have an additional benefit from therapies that target insulin resistance.

Samenvatting

Familiaire Gecombineerde Hyperlipidemie (FGH) is een genetische aandoening die gekenmerkt wordt door een verstoord vetmetabolisme. Aangedane personen afkomstig van FGH families vertonen één van de volgende karakteristieken: een verhoogd cholesterolgehalte in het bloed, bekendstaand als Fredrickson type IIa hyperlipidemie; hypertriglyceridemie, bekend als type IV hyperlipidemie of een combinatie van verhoogd cholesterol- en hypertriglyceridemie, ofwel Fredrickson type IIb. Het frequente optreden van hart- en vaatziekten op jonge leeftijd (vóór 60 jaar) is kenmerkend voor FGH families. Personen met FGH laten dikwijls een verhoging van de insuline plasmaspiegel zien met tevens insulineresistentie, abdominale obesitas en een verhoogde bloeddruk. Een plasma fenotype met verhoogde triglyceriden, laag high-density cholesterol (HDL cholesterol), in combinatie met de aanwezigheid van small dense LDL (sd LDL) komt vaak voor in personen met FGH en wordt "het atherogene lipoproteïne fenotype" genoemd. Wij hebben dit fenotype en de metabole determinanten ervan bestudeerd.

Uit onderzoek blijkt dat FGH een gevolg kan zijn van een verstoord vetzuurmetabolisme. Aangedane personen met FGH nemen vetzuren langzamer in hun vetweefsel op en mede daardoor blijven vetzuren na een maaltijd langer in de bloedbaan. Vetzuren die lang blijven circuleren kunnen metabole verstoringen in andere organen veroorzaken. Voorbeelden hiervan zijn de stapeling van vetzuren en hun metaboliëten, die in skeletspier en lever tot verminderde gevoeligheid voor de hormonale werking van insuline kunnen leiden. Het is aangetoond dat de door insuline gestimuleerde glucoseopname in de skeletspier in FGH verminderd wordt, afhankelijk van het aanbod van vetzuren. Het is nog niet bewezen dat insulineresistentie in de lever betrokken is bij FGH. Dat is belangrijk om te weten want de lipoproteïneproductie (Apo B-100) door de lever is insuline gevoelig. Bij gezonde personen onderdrukt insuline de productie van lever lipoproteïnen, vooral de productie van triglyceridenrijke very low-density lipoproteïne (VLDL). Vetstapeling (vetlever, NASH) in de lever kan ook de lipoproteïneproductie beïnvloeden. Ook dit werd onderzocht in een FGH patiëntenpopulatie, afkomstig uit de polikliniek van het Academisch Ziekenhuis Maastricht.

De very low-density lipoprotein-triacylglycerol (VLDL-TG) pathway weerspiegelt het metabolisme van plasma Apo-100 lipoproteïne en triglyceriden tijdens de gevaste (nuchtere) toestand. In dit proefschrift hebben we aangetoond dat veranderingen in the VLDL-TG pathway de expressie van FGH beïnvloeden.

Very low-density lipoprotein (VLDL) and low-density lipoprotein (LDL) bestaan uit subklassen, die verschillend zijn in metabool en fysisch-chemisch opzicht. Er was een duidelijk patroon van LDL subklassen te zien in onze steekproef van FGH families: er waren personen met grote LDL deeltjes, ook wel “patroon A” genoemd, en personen met kleine (small dense, sd) LDL deeltjes, ofwel “patroon B” (*hoofdstuk 2*). Wij onderzochten wat de verschillen waren tussen “patroon A” en “patroon B” patiënten. Personen met patroon A waren hypercholesterolemisch (Fredrickson IIa) en hadden een sterk verhoogd plasma Apo B gehalte. Personen met patroon B waren hypertriglyceridemisch (Fredrickson IIb or IV) en hadden laag HDL cholesterol, in combinatie met matig verhoogde Apo B, totaal cholesterol en LDL cholesterol waarden. Hypertriglyceridemie in deze personen werd veroorzaakt door toename in plasma VLDL1 deeltjes. VLDL1 wisselt triglyceriden uit met LDL en HDL deeltjes, en een overmatige uitwisseling kan tot gevolg hebben dat er een verlaging van plasma HDL cholesterol en sd LDL stapeling optreedt. Tevens correleerde VLDL1-TG met plasma insuline. Dat kan betekenen dat een (overmatige) VLDL1 productie in personen met patroon B een gevolg kan zijn van insulineresistentie. Bovendien lijkt het VLDL metabolisme de aanwezigheid van aparte fenotypen in FGH te kunnen verklaren.

Een groot aanbod van vrije vetzuren kan bijdragen aan de vetstapeling in de lever. Activatie van transcriptie factoren door hyperinsulinemie speelt ook een belangrijke rol bij de vetstapeling. Wij bestudeerden de prevalentie van vetlever bij FGH patiënten die afkomstig waren van het Academisch Ziekenhuis Maastricht (*hoofdstuk 3*). Het bleek dat de prevalentie van vetlever bij FGH aanzienlijk groter was dan bij de controlepopulatie, eveneens afkomstig van het Academisch Ziekenhuis Maastricht. Bovendien bleken alle FGH patiënten met een vetlever verhoogde plasma triglyceriden te hebben. Dit kan betekenen dat vetstapeling in de lever bijdraagt aan de overmatige productie van grote triglyceridenrijke VLDL1, door de vergrote beschikbaarheid van substraat voor VLDL synthese. Uiteraard is verder onderzoek in een grotere studie populatie nodig om te begrijpen of deze waarneming bevestigd kan worden.

Wij veronderstellen dat plasma lipoproteïne fenotypen in FGH ontstaan door verschillen in het metabole profiel tussen individuen. Omgevingseffecten of genetische variatie, alleen of in combinatie, dragen bij aan het ontstaan van de FGH fenotypen door verschillen in insulineresistentie te veroorzaken, en mogelijk mede vetstapeling in de lever te veroorzaken (*hoofdstukken 2, 3 en 5*).

Subklinische activatie van de bloedstolling komt vaak voor in hyperlipidemische omstandigheden, maar deze associatie bleek onvoldoende onderzocht te zijn in FGH. We bestudeerden de activiteit van het bloedstollingssysteem in relatie tot de lipoproteïne fenotypen in FGH. Alle aangedane FGH personen bleken een verhoogd plasma gehalte van een of meerdere stollingsfactoren te vertonen (*hoofdstuk 4*). Deze subklinische activatie van de stollingssysteem kan een belangrijk rol spelen bij het ontstaan van de symptomen van hart- en vaatziekten in FGH. Een verhoogd plasmagehalte van plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) was karakteristiek voor hypertriglyceridemische FGH personen met metabool syndroom. Stijging van PAI-1 activiteit duidt op een verstoorde fibrinolyse en dit kan extra risico op hart- en vaatziekten bij deze personen vormen. Op dit moment is er weinig bekend over een specifieke behandeling hiervan.

Aangedane FGH personen tonen een complex fenotype met verhoogde prevalentie van het metabole syndroom. Een verhoogde VLDL1 plasmaspiegel is kenmerkend voor FGH personen met het metabole syndroom en kan leiden tot hypertriglyceridemie (*hoofdstuk 5*). Insulineresistentie is waarschijnlijk de oorzaak van overmatige VLDL1 productie in personen met FGH en het metabole syndroom. Het is interessant te weten dat personen met type 2 DM, die ook een verhoogd risico op het metabole syndroom hebben, een overmatige leverproductie tonen van VLDL1 deeltjes, die veel groter (triglyceriderijker) zijn dan VLDL1 deeltjes bij gezonde personen. Dit in tegenstelling tot FGH, waar het vetgehalte van de VLDL1 deeltjes bij de FGH patiënten vergelijkbaar was met dat van controles. Die observatie geeft aan dat er verschillen in vetmetabolisme in de lever kunnen bestaan tussen FGH en andere vormen van het metabole syndroom, tenminste met type 2 DM. Deze verschillen moeten nog worden bestudeerd.

Plasmalipiden concentraties, vooral cholesterol en LDL cholesterol, in hypertriglyceridemische FGH personen daalden met atorvastine behandeling (40mg/d), na 8 weken monotherapie, maar er was geen verandering in surrogaat markers voor

insulineresistentie zoals plasma insuline, vrije vetzuren en HOMA (*hoofdstuk 6*). Ook plasma triglyceriden bleven verhoogd (> 2 mmol/L) in de meeste patiënten en de LDL deeltjes bleven klein. HDL cholesterol steeg met therapie, maar bleef laag. Een verklaring hiervoor kan zijn dat plasma triglyceriden, de grootte van LDL deeltjes en HDL-cholesterol nauw verband houden met het onderliggende ziekteproces in FGH. Het plasmagehalte van PAI-1 en C-reactive protein (CRP) daalde met atorvastatine behandeling. Er was geen verband tussen de veranderingen in lipiden en PAI-1, of CRP. Vanwege gecombineerde effecten blijven statines belangrijk voor de preventie en de behandeling van hart – en vaatziekten bij FGH patiënten. Behandeling van de insulineresistentie kan extra voordeel opleveren bij hypertriglyceridemische FGH patiënten omdat dat het onderliggende ziekteproces aangrijpt.