

# Genetic background, diet and body fatness : impact on metabolic risk markers and lipid metabolism

## Citation for published version (APA):

Jellema, A. (2003). *Genetic background, diet and body fatness : impact on metabolic risk markers and lipid metabolism*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht.

## Document status and date:

Published: 01/01/2003

## 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.

## Summary

The objectives of the studies described in this thesis were twofold. The first objective was to examine if relationships between selected genetic polymorphisms on metabolic risk markers depend on body fatness. The polymorphisms that we studied were from the genes coding for insulin receptor substrate-1 (IRS-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6), which are all expressed in adipose tissue. The second objective was to compare side by side in obese males the effects of fish oil supplementation and weight loss, which may both reverse some of the metabolic disturbances seen in obesity. Especially, the effects of these two interventions on adipose tissue metabolism and inflammatory responses were examined.

IRS-1 occupies a key position in the insulin signaling pathway. An impaired IRS-1 function may therefore weaken insulin signaling and increase the risk to develop type 2 diabetes. An important polymorphism of the IRS-1 gene is the *Gly972Arg* polymorphism with a prevalence of about 10% in Western countries. In a large cohort of 600 subjects, selected according to body mass index (BMI) (BMI 26 - 40 kg/m<sup>2</sup> or BMI 18 - 24 kg/m<sup>2</sup>) and IRS-1 genotype, associations between this polymorphism and metabolic risk markers were investigated (**chapter 2**). Subjects with the 972Arg variant had significantly higher insulin concentrations (4.08 pmol/L; p=0.024) and lower triglyceride (TG) levels (0.13 mmol/L; p=0.001) compared with non-carriers when adjusted for age, sex, waist to hip ratio, BMI, alcohol consumption, physical activity and cigarette smoking. These associations were more pronounced in the high BMI group, although the interaction between genotype and BMI did not reach statistical significance.

Since the *Gly972Arg* polymorphism may impair insulin signaling, we were also interested in the relationship between this polymorphism and the risk to develop type 2 diabetes. This has already been examined in several case-control studies, but most studies had a limited power, which may explain the inconsistent results. We therefore decided to perform a meta-analysis (**chapter 3**). The summary risk ratio, based on 3,408 cases and 5,419 controls from 27 studies, was 1.25 (95% CI 1.05-1.48), suggesting that subjects with the *Gly972Arg* polymorphism indeed had a higher risk to develop type 2 diabetes.

In **chapter 4**, associations between the *G174C* polymorphism in the IL-6 and the *G308A* polymorphism in the TNF- $\alpha$  gene with metabolic risk markers were examined. For the IL-6 polymorphism, the waist to hip ratio in the high BMI group (BMI 26 - 40 kg/m<sup>2</sup>) was significantly lower in CC subjects than in CG and GG subjects (0.91 versus 0.94 and 0.95; p=0.033) of the IL-6 polymorphism. This relationship was not found in the low BMI group (BMI 18-

24 kg/m<sup>2</sup>). For the TNF- $\alpha$  polymorphism, carriers of the AA variant had higher TG and lower high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels compared with carriers of the GA or GG variant (2.46 mmol/L versus 1.41 and 1.26 mmol/L;  $p=0.001$  for TG and 1.01 mmol/L versus 1.17 and 1.09 mmol/L;  $p=0.016$  for HDL-C). Again, this relationship was only found in subjects with a high BMI. For both polymorphisms no other significant associations were observed. A gene-gene interaction between both polymorphisms was present with respect to TG concentrations. Subjects with the IL-6 GG variant and the TNF- $\alpha$  AA variant had significantly higher TG levels compared with all other combinations.

Besides genetic background, dietary interventions also affect metabolic risk markers related to lipid and glucose metabolism. In this thesis, a side by side comparison was made to study the effects of fish oil and weight loss on subcutaneous adipose tissue metabolism and inflammatory responses during the fasting and postprandial period in obese men. These two interventions were chosen because of their potential to decrease metabolic risk markers. Eleven obese individuals with a BMI between 30 and 35 kg/m<sup>2</sup> participated in the fish oil study, a double-blind cross-over study consisting of two periods of six weeks. Subjects received in random order fish oil capsules that provided daily 0.60 g eicosapentaenoic acid (EPA; C20:5 n-3) and 0.51 g docosahexaenoic acid (DHA; C22:6 n-3) and control capsules, containing high oleic sunflower oil. Eight of the subjects also agreed to participate in the weight reduction study, in which the men received first a very low calorie diet (VLCD) for four weeks followed by an energy-restricted diet for two weeks, and a diet to maintain body weight for another two weeks. Subjects lost on average 9.36 kg of body weight during this intervention.

In **chapter 5**, the effects of these two dietary interventions on subcutaneous adipose tissue lipolysis, as measured with the microdialysis technique in the fasting and postprandial state, were studied. Glycerol release across the adipose tissue was significantly increased after fish oil supplementation compared with control supplementation ( $p=0.005$ ), suggesting an increased subcutaneous abdominal adipose tissue lipolysis. Weight reduction decreased circulating glycerol and NEFA concentrations ( $p<0.001$ ), indicating a decreased whole body lipolysis during basal and postprandial conditions. Fasting glycerol release seemed to be decreased after weight loss, although this was not statistically significant. However, 3 to 4.5 hours after the meal glycerol release was statistically increased after weight loss. Thus, a decreased subcutaneous adipose tissue lipolysis during the postprandial phase cannot explain the effects of fish oil and weight loss on lipid and glucose metabolism. In fact,

subcutaneous abdominal adipose tissue lipolysis was increased in the late postprandial period, although insulin sensitivity seemed to be improved.

The *in vivo* effects of both fish oil and of weight reduction on circulating concentrations of pro-inflammatory cytokines and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) antigen in the fasting and postprandial state were explored in **chapter 6**. IL-6, PAI-1 antigen, and soluble tumor necrosis factor receptor concentrations (sTNF-R60 and sTNF-R80) were not statistically different between the fish oil and control period, but were consistently lower after weight reduction ( $p < 0.01$ ). TNF- $\alpha$  concentrations did not change after fish oil supplementation, but tended to reduce after weight reduction ( $p = 0.094$ ). Changes relative to baseline concentrations during the postprandial phase were not significantly affected by fish oil or weight reduction. We therefore concluded that, unlike weight reduction, a modest but realistic increased intake of fish oil is not a powerful intervention to lower the increased concentrations of inflammatory parameters and PAI-1 antigen concentrations as observed.

Our results clearly show that relationships between genetic factors and metabolic risk markers may depend on body fatness. At the same time, it should be recognized that reducing body weight has a much stronger impact on metabolic risk markers than the polymorphisms we have studied or than fish oil. It should further be emphasized that one single polymorphism determines only in a rare number of cases the difference between health and disease. In general, the genetic component of these markers is the result of polygenic interactions involving the simultaneous inheritance of several widespread mutations, each with subtle or minor effects on the development of the phenotypes. In future research the impact of interactions between several genes and between genes and environment will become more and more important. Such studies will possibly form the basis for genetic-based dietary advices.

## Samenvatting

De doelstelling van dit proefschrift was tweeledig. Het eerste doel was onderzoeken of relaties tussen geselecteerde genetische polymorfismen en metabole risicofactoren afhankelijk zijn van de hoeveelheid lichaamsvet. De polymorfismen die we hebben bestudeerd zijn afkomstig van genen die coderen voor het insuline-receptor substraat-1 (IRS-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) en interleukine-6 (IL-6), die allen tot uitdrukking komen in het vetweefsel. De tweede doelstelling was het vergelijken van zowel de effecten van visolie als van gewichtsreductie, die beide metabole verstoringen in obesitas kunnen verminderen. In het bijzonder wordt de invloed van deze twee interventies op het vetweefsel metabolisme en de inflammatoire respons beschreven.

IRS-1 vervult een sleutelrol in de insuline signalering. Een verstoorde IRS-1 functie kan daarom leiden tot een verslechterde insuline signalering met als gevolg een verhoogd risico op de ontwikkeling van type 2 diabetes. Een belangrijk polymorfisme van het IRS-1 gen is het *Gly972Arg* polymorfisme met een prevalentie van ongeveer 10% in Westerse landen. In een groot cohort van 600 personen, geselecteerd op basis van de quetelet index (QI) (QI 26 - 40 kg/m<sup>2</sup> of QI 18 - 24 kg/m<sup>2</sup>) en het IRS-1 genotype, zijn associaties tussen dit polymorfisme en metabole risicofactoren bestudeerd (**hoofdstuk 2**). Personen met de *972Arg* variant hadden significant hogere insuline concentraties (4,08 pmol/L;  $p=0,024$ ) en verlaagde triglyceride (TG) concentraties (0,13 mmol/L;  $p=0,001$ ) vergeleken met personen die geen drager zijn van het polymorfisme na correctie voor leeftijd, geslacht, middel heup omtrek, QI, alcohol consumptie, lichamelijke activiteit en roken. Deze associaties waren duidelijker aanwezig in personen met een hoge QI, alhoewel de interactie tussen genotype en QI niet significant was.

Omdat het IRS-1 polymorfisme de insuline signalering kan verslechteren waren we ook geïnteresseerd in de relatie tussen dit polymorfisme en het risico op het ontwikkelen van type 2 diabetes. Deze relatie is al bestudeerd in verschillende patiënt-controle onderzoeken, maar de meeste studies hadden een gelimiteerde power, wat een mogelijke verklaring kan zijn voor de inconsistente resultaten. We hebben daarom besloten een meta-analyse uit te voeren (**hoofdstuk 3**). De gemiddelde OR, gebaseerd op 3.408 patiënten en 5.419 controlepersonen uit 27 studies, was 1,25 (95% BI 1,05-1,48), wat suggereert dat personen met het *Gly972Arg* polymorfisme een verhoogd risico op het ontwikkelen van type 2 diabetes hebben.

In **hoofdstuk 4** worden associaties tussen het *G174C* polymorfisme in het IL-6 gen en het *G308A* polymorfisme in het TNF- $\alpha$  gen met metabole risicofactoren beschreven. Voor wat betreft het IL-6 polymorfisme was de

middel heup omtrek in de hoge QI groep (QI 26 - 40 kg/m<sup>2</sup>) significant lager in CC dragers vergeleken met CG en GG dragers (0,91 ten opzichte van 0,94 en 0,95;  $p=0,033$ ). Dit verband was niet aanwezig in de lage QI groep (QI 18 - 24 kg/m<sup>2</sup>). Voor wat betreft het TNF- $\alpha$  polymorfisme bleken dragers van de AA variant hogere TG en lagere hoge dichtheid lipoproteïne cholesterol (HDL-C) concentraties te hebben vergeleken met dragers van zowel de GA als GG variant (2,46 mmol/L ten opzichte van 1,41 en 1,26 mmol/L;  $p=0,001$  voor TG en 1,01 mmol/L versus 1,17 en 1,09 mmol/L;  $p=0,016$  voor HDL-C). Opnieuw werd dit verband alleen gevonden in personen met een hoge QI. Voor beide polymorfismen werden geen andere significante associaties gevonden. Een gen-gen interactie tussen beide polymorfismen was aanwezig ten aanzien van TG concentraties. Personen met de IL-6 GG variant en de TNF- $\alpha$  AA variant hadden significant hogere TG gehalten vergeleken met alle andere combinaties.

Naast genetische achtergrond hebben ook dieet interventies effect op metabole risicofactoren die verband houden met vet en glucose metabolisme. In dit proefschrift is het effect van zowel visolie als gewichtsreductie op het onderhuidse vetweefsel metabolisme en de inflammatoire respons gedurende de nuchtere en gevoede toestand bij obese mannen bestudeerd. Deze twee interventies zijn gekozen, omdat met behulp van beide interventies metabole risicofactoren verlaagd kunnen worden. Elf obese mannen met een QI tussen de 30 en 35 kg/m<sup>2</sup> namen deel aan de visolie studie, een dubbelblinde gekruiste studie bestaande uit twee perioden van 6 weken. Personen ontvingen in willekeurige volgorde visolie capsules, die zorgden voor een dagelijkse inname van 0,60 g eicosapentaeenzuur (EPA; C20:5 n-3) en 0,51 g docosahexaeenzuur (DHA; C22:6 n-3), en controle capsules bestaande uit zonnebloemolie. Acht van de elf personen namen vervolgens deel aan de gewichtsreductie studie waarin zij gedurende 4 weken een dieet met zeer weinig calorieën ontvingen gevolgd door een energie-beperkt dieet gedurende 2 weken en een dieet om gewichtsstabiel te blijven gedurende de 2 weken daaropvolgend. Deelnemers verloren gemiddeld 9,36 kg gedurende deze interventieperiode.

In **hoofdstuk 5** worden de effecten van deze interventies op de subcutane vetweefsel lipolyse, gemeten met de microdialyse techniek in de nuchtere en gevoede toestand, beschreven. De glycerol afgifte over het vetweefsel was significant verhoogd na visolie supplementatie vergeleken met controle supplementatie ( $p=0,005$ ), wat een verhoogde subcutane vetweefsel lipolyse suggereert. Gewichtsreductie verlaagde de circulerende glycerol en vrije vetzuren concentraties ( $p<0,001$ ), wat een indicatie is voor een verlaagde totale lipolyse gedurende de nuchtere en gevoede toestand. In nuchtere



toestand leek de glycerol afgifte verlaagd te zijn, alhoewel dit niet significant was. Echter, 3 tot 4,5 uur na de maaltijd was de glycerol afgifte significant verhoogd na gewichtsreductie. Dit betekent dat een verlaagde subcutane vetweefsel lipolyse gedurende de gevoede toestand niet de effecten van visolie en gewichtsreductie op vet en glucose metabolisme kan verklaren. De subcutane vetweefsel lipolyse blijkt zelfs verhoogd te zijn gedurende de periode na de maaltijd, alhoewel de insuline gevoeligheid verbeterd is.

De *in vivo* effecten van zowel visolie als gewichtsreductie op circulerende concentraties van pro-inflammatoire cytokines en plasminogeen-activatorremmer-1 (PAI-1) antigeen in de nuchtere en gevoede toestand worden beschreven in **hoofdstuk 6**. IL-6, PAI-1 antigeen en oplosbare TNF receptor concentraties (sTNF-R60 en TNF-R80) waren niet verschillend tussen de visolie en controle periode, maar waren consistent lager na gewichtsreductie ( $p < 0,010$ ). TNF- $\alpha$  concentraties waren niet veranderd na visolie supplementatie, maar leken te zijn verlaagd na gewichtsreductie ( $p = 0,094$ ). Veranderingen ten opzichte van nuchtere waarden gedurende de periode na de maaltijd werden niet beïnvloed door visolie of gewichtsreductie. We hebben daarom geconcludeerd dat, in tegenstelling tot gewichtsreductie, een gemiddelde inname van visolie niet leidt tot een verlaging van inflammatoire parameters en PAI-1 antigeen concentraties.

Onze resultaten laten duidelijk zien dat associaties tussen genetische factoren en metabole risicofactoren afhankelijk kunnen zijn van de hoeveelheid lichaamsvet. Tegelijkertijd moet gezegd worden dat gewichtsreductie een veel grotere invloed heeft op metabole risicofactoren dan de polymorfismen die wij bestudeerd hebben of dan visolie. Verder moet benadrukt worden dat een enkel polymorfisme alleen in een uitzonderlijk geval het verschil tussen gezondheid en ziekte verklaart. Over het algemeen is de genetische component van deze metabole risicofactoren het resultaat van polygene interacties betreffende de simultane overerving van meerdere mutaties, die elk een klein effect hebben op het fenotype. In toekomstig onderzoek zal de invloed van interacties tussen verschillende genen en omgevingsfactoren steeds belangrijker worden. Zulke studies zullen mogelijk de basis zijn van dieetadviezen gebaseerd op genetica.