

Novel insights in the pathophysiology of insulin resistance : a molecular genetic approach

Citation for published version (APA):

Meex, S. J. R. (2008). *Novel insights in the pathophysiology of insulin resistance : a molecular genetic approach*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20080307sm>

Document status and date:

Published: 01/01/2008

DOI:

[10.26481/dis.20080307sm](https://doi.org/10.26481/dis.20080307sm)

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

Over the past two decades, a dramatic worldwide increase in the number of people with obesity has been observed. The obesity pandemic is the driving force behind the high incidence of cardiovascular disease. The term “metabolic syndrome” defines the clustering of various obesity-associated cardiovascular risk factors (hypertension, disturbed glucose homeostasis and atherogenic dyslipidemia) with insulin resistance as a central component. A combination of environmental (nutrition, physical activity) and genetic factors determines the risk for a given individual to develop the metabolic syndrome. Two subgroups of patients with the metabolic syndrome, those with type 2 diabetes (DM2) and familial combined hyperlipidemia (FCHL), are at particularly high risk for premature cardiovascular disease. Nearly two-thirds of individuals with FCHL, and 80-90% of patients with type 2 diabetes, meet the diagnostic criteria of the metabolic syndrome. The marked presence of a genetic component in type 2 diabetes and FCHL, reflected by their familial clustering, provides us with two excellent models to study the genetic background of insulin resistance and may benefit millions of people with the metabolic syndrome.

The central aim of this thesis was to identify novel genes and molecular pathways that underlie the pathophysiology of insulin resistance. In particular DM2 and FCHL were used as two complementary genetic models for insulin resistance. Since DM2 and FCHL are postulated to share some of their genetic components, our side by side research design also provided a unique opportunity to investigate whether established and novel DM2 susceptibility genes confer also increased risk to FCHL and vice versa.

In chapter 2 we discussed the various approaches that can be employed to dissect the genetic background of complex diseases, and the contribution of each method to our present understanding of the genetic background of familial combined hyperlipidemia (FCHL) and type 2 diabetes (DM2)

The first experimental chapter (*Chapter 3*) is the basis of this thesis. It describes a gene expression study conducted on cultured pre-adipocytes from patients with FCHL and healthy control subjects. The use of cultured human cells instead of freshly isolated adipocytes allowed us to suppress adaptive gene expression differences and preserve the (epi)genetic effects. This approach re-

vealed increased CD36-expression and CD36-functionality as a novel, potentially important feature of FCHL adipose tissue, which may be of genetic origin

Combined information from gene-expression data in chapter 3, another FCHL expression array with immortalized lymphoblast cell lines, and data from genetic linkage analyses led to the identification of a new candidate gene for type 2 diabetes: Activating Transcription Factor 6 (ATF6). The potential significance of ATF6 is extended in *Chapter 5* where we demonstrate association of an exonic variant in ATF6 with FCHL in three independent samples from Dutch and Finnish origin. In vitro studies support the genetic data and unequivocally implicate the ATF6 exon polymorphism as a causal variant. Together, results from chapter 4 and 5 provide proof for the postulated shared genetic background in FCHL and type 2 diabetes, and highlight the endoplasmic reticulum stress response, a novel pathway in the pathophysiology of insulin resistance and dyslipidemia. *Chapter 6* evaluates the well-established FCHL-susceptibility gene Upstream Stimulatory Factor 1 (USF1), for its potential role in type 2 diabetes in two large Dutch case control samples comprising more than 2000 individuals. In *Chapter 7* we put all data in perspective, discuss their potential relevance for diagnostic or screening purposes, and integrate them with emerging insights in the field of insulin resistance, with emphasis on the endoplasmic reticulum stress response.

Samenvatting

Het aantal mensen met overgewicht neemt wereldwijd explosief toe. Deze pandemie is de drijvende kracht achter de hoge incidentie van hart- en vaatziekten. Mensen met overgewicht lijden vaak aan het zogenaamde “metabool syndroom”, een cluster van cardiovasculaire risicofactoren (hypertensie, hyperglycemie, en een atherogeen lipoproteïne fenotype) met als centrale component “insuline resistentie”. Het risico om als individu het metabool syndroom te ontwikkelen – en daarmee dus een sterk verhoogd risico op hart- en vaatziekten – wordt bepaald door een combinatie van levensstijl (voeding, lichaamsbeweging) en erfelijkheid. Twee subgroepen met het metabool syndroom hebben een bovengemiddelde erfelijke belasting, en daarmee een nog hoger risico op hart- en vaatziekten: het betreffen patiënten met familiair gecombineerde hyperlipidemie (FGH) en type 2 diabetes (DM2). Deze twee patiëntengroepen zijn vanwege hun duidelijke genetische component een uitstekend model om de erfelijke aspecten van insuline resistentie en het metabool syndroom te onderzoeken. Bijna 2/3 van de patiënten met FGH en zelfs 80-90% van de DM2-patiënten voldoen aan de criteria van het metabool syndroom. Een beter begrip van de genetische variaties die ten grondslag liggen van deze aandoeningen is dus niet alleen van belang voor deze twee specifieke populaties, maar heeft een mogelijke draagwijdte voor miljoenen patiënten met het metabool syndroom.

De centrale doelstelling van dit proefschrift was het identificeren van nieuwe genen en cellulaire routes die aan de basis liggen van insuline resistentie. Hiervoor werden DM2 en FGH gebruikt als twee complementaire genetische modellen voor insuline resistentie. Omdat verondersteld wordt dat DM2 en FGH een gedeeltelijk overlappende genetische achtergrond hebben, bood onze onderzoeksopzet bovendien de unieke mogelijkheid om het effect van bestaande en nieuwe “diabetesgenen” te verifiëren in FGH, en omgekeerd.

In hoofdstuk 2 zijn de verschillende mogelijke benaderingen beschreven die gebruikt kunnen worden voor de ontrafeling van complexe genetische aandoeningen, en de bijdrage van elke methode aan de huidige inzichten in de genetische achtergrond van DM2 en FGH.

Hoofdstuk 3 vormt de experimentele basis van deze thesis. Hier werd een genexpressiestudie uitgevoerd met gekweekte pre-adipocyten (voorlopers van vetcellen) van patiënten met FGH en gezonde controlepersonen. De keuze voor gekweekte pre-adipocyten in plaats van verse adipocyten, direct uit de patiënt, maakte het mogelijk om adaptieve genexpressieverschillen te onderdrukken, en alleen de genetische en epigenetische effecten te selecteren. Middels deze aanpak werd in cellen afkomstig van FGH patiënten een verhoogde expressie van CD36, en toegenomen vetzuurtransport via dit molecuul, aangetoond. Dit is wellicht een reflectie van insulineresistentie bij FGH, die reeds in een zeer vroeg stadium detecteerbaar is en mogelijk een genetische oorsprong heeft.

Het combineren van informatie uit genexpressiestudies (o.a. uit hoofdstuk 3) en genetisch koppelingsonderzoek, heeft geleid tot de identificatie van een nieuw kandidaatgen voor type 2 diabetes in hoofdstuk 4: Activatie Transcriptie Factor 6 (ATF6). De mogelijke relevantie van ATF6 werd in hoofdstuk 5 nog verder uitgebreid door aan te tonen dat een veelvuldig voorkomende aminozuursubstitutie in dit gen geassocieerd is met FGH, en vooral invloed heeft op plasma (LDL-)cholesterol en apolipoproteïn B. Deze vinding werd robuust gerepliceerd in drie onafhankelijke Nederlandse en Finse patiëntencohorten. Samen met een serie *in vitro* experimenten wijzen deze data eenduidig het polymorfe aminozuur 67 in het ATF6-eiwit aan als de causale variant. Hoofdstukken 4 en 5 bieden gezamenlijk enig bewijs voor de veronderstelde overlappende genetische achtergrond van type 2 diabetes en familiair gecombineerde hyperlipidemie. Nog belangrijker is dat de data een nieuwe cellulaire route impliceerden voor insuline resistentie en dyslipidemie: “de endoplasmatisch reticulum stress response”.

Eveneens in functie van de mogelijke genetische overlap tussen type 2 diabetes en FGH, werd in hoofdstuk 6 het gevestigde en meest gerepliceerde FGH risico gen USF1 bestudeerd in relatie tot zijn mogelijke betrokkenheid bij type 2 diabetes. Een bescheiden, maar significante associatie met type 2 diabetes werd hierbij aangetoond. In hoofdstuk 7 plaatsten we alle verkregen data in perspectief, bediscussieerden hun mogelijke relevantie in een tijdperk waar “gepersonaliseerde geneeskunde” steeds belangrijker wordt, en focusten op nieuwe inzichten in de rol van endoplasmatisch reticulum stress in bijna alle componenten van het metabool syndroom.