

Genetic variation in energy metabolism: impact of the B2-adrenoceptor polymorphism Gly16Arg

Citation for published version (APA):

Oomen, J. M. (2006). *Genetic variation in energy metabolism: impact of the B2-adrenoceptor polymorphism Gly16Arg*. Maastricht University.

Document status and date:

Published: 01/01/2006

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

In Western societies the prevalence of obesity has been increasing over the last centuries. As in other diseases, genetic variation influences the prevalence of obesity, in combination with environmental factors. Impairment in energy metabolism leading to changes in energy efficiency can eventually result in obesity. Because of the important role of the sympathetic nervous system (SNS) in the regulation of energy and substrate metabolism, and thus energy balance, genes and proteins involved in this system are targets for genetic research in relation to obesity.

Several association studies showed a relation between genetic variation in the β_2 -adrenoceptor gene (at codon 16) and obesity. Therefore, the research presented in this thesis focuses on the functional role of this polymorphism (Gly16Arg variation) and its contribution to the multi-factorial disturbance in energy balance and lipolysis that could be involved in the pathophysiology of obesity.

In the first study (chapter two) we investigated the relationship between body composition and lipolytic activity *in vitro* after stimulation with the selective β_2 -adrenoceptor agonist salbutamol. All correlations between parameters of body composition and lipolysis were negative, but none of them reached statistical significance. In the same experiment we investigated the role of the Gly16Arg β_2 -adrenoceptor gene polymorphism *in vitro*. However, due to the low number of subjects in the study it was difficult to draw conclusions. Some of the subjects participated also in an *in vivo* experiment (see below). Therefore, we were able to investigate the relation between *in vitro* and *in vivo* measurements of lipolytic activity. Few other studies have investigated the relation between *in vivo* and *in vitro* lipolytic activity with inconclusive results. We found a positive correlation between maximal lipolytic rate (*in vitro*) and salbutamol-induced changes in NEFA (*in vivo*), indicating a relation between *in vivo* and *in vitro* measurements. However, correlations between maximal lipolytic rate and changes in plasma glycerol levels, as well as lipolytic sensitivity and changes in plasma NEFA and glycerol levels, were not found to be statistically significant. The relation between *in vivo* and *in vitro* measurements is therefore weak.

In a larger sample of subjects (chapter three) we measured *in vivo* lipolytic response after selective β_2 -adrenoceptor stimulation with salbutamol and compared the different genetic groups for codon 16 of the β_2 -adrenoceptor

(Gly16Gly, Gly16Arg, and Arg16Arg). We found a blunted increase in energy expenditure in the Arg16Arg group compared to the Gly-carrier group. In a multiple regression model genetic variation in the β_2 -adrenoceptor gene together with the change in plasma NEFA concentration explained 35% of the increase in energy expenditure. These findings might suggest a role for this β_2 -adrenoceptor gene polymorphism in the development and maintenance of overweight and obesity.

To further investigate this possible role of the β_2 -adrenoceptor gene polymorphism in obesity we investigated the influence of this polymorphism after non-selective stimulation with isoprenaline of the β -adrenoceptor (chapter four), because this would represent a more physiological stimulation than β_2 -selective stimulation alone. After non-selective stimulation, changes in energy expenditure were not different among polymorphism groups and the polymorphism in codon 16 did not contribute significantly to the isoprenaline-induced increase in energy expenditure. None of the other measured parameters (change in NEFA, change in glycerol) contributed significantly to the change in energy expenditure, indicating genetic variation in the β_2 -adrenoceptor gene and lipolytic activity, are not likely to be the main factors in isoprenaline-induced increase in energy expenditure.

A physiological way to stimulate the β_2 -adrenoceptor is with a meal. Diet induced thermogenesis (DIT), and especially the facultative component is mediated by the sympathetic nervous system (SNS). Therefore, in the fourth study (chapter five), we investigated whether the polymorphism at codon 16 in the β_2 -adrenoceptor gene would have an influence on DIT. Subjects were fed a high-carbohydrate liquid meal to increase DIT. Increase in plasma adrenaline levels explained 32% of the variation in DIT, where genetic variation in the β_2 -adrenoceptor gene did not contribute to the change in energy expenditure. The non-selective stimulation of the β -adrenoceptors after a meal and the difference in adrenaline response to the meal between the groups might have diluted the influence of the genetic variation to DIT.

Because individual differences in weight gain (Up to threefold difference) in response to overfeeding have been described, we investigated in chapter six two short-term overfeeding protocols for their ability to detect metabolic susceptibility to weight gain during overfeeding in humans. With two 7-day overfeeding (+1000kcal/day) periods, different in protein content (3 energy% protein and 15 energy% protein) we studied the changes in energy expenditure and weight gain. We found a significantly different change in weight between the two diet periods. However, we could not find differences in energy expenditure between the two diets. A small, but not significant,

increase in energy expenditure could not explain the fate of the extra energy intake during low-protein diet. During the normal-protein diet, weight gain completely explained the fate of the excess energy intake. This developed short-term overfeeding protocol was therefore not able to discriminate between individual differences in susceptibility for weight gain during overfeeding.

Overall, the studies in this thesis suggest that there is, at the receptor level (selective stimulation), a functional influence of the β_2 -AR polymorphism at codon 16, resulting in a blunted increase in energy expenditure. However, when the stimulation is non-selectively the influence of the polymorphism is less pronounced or does not even exist. When the physiological pathway from the receptor downstream to a functional end point is getting longer and more complex, more regulatory factors will be involved and can influence the final outcome and therefore the potential impact of the polymorphism is diluted. However, this does not mean that on the long-term a very small effect due to a certain polymorphism may not contribute to the development of obesity.

Samenvatting

Het aantal mensen in westerse landen dat te kampen heeft met overgewicht of obees is, is de afgelopen decennia enorm toegenomen. Naast omgevingsfactoren speelt erfelijke aanleg hierbij een belangrijke rol. Een verstoring in energiebalans kan uiteindelijk leiden tot overgewicht. Het sympathisch zenuwstelsel speelt een zeer belangrijke rol bij de regulatie van het energie- en substraatgebruik en dus de energiebalans. Genen die coderen voor eiwitten die een rol spelen in het sympathisch zenuwstelsel zijn daarom interessant voor onderzoek naar genetische aanleg voor obesitas.

Verschillende studies hebben al aangetoond dat er een relatie bestaat tussen genetische variatie in het gen dat codeert voor de β_2 -adrenerge receptor (op codon 16) en obesitas. Het onderzoek in dit proefschrift richt zich op de bijdrage van dit polymorfisme aan de regulering van lipolyse en energiegebruik. Verstoringen in deze regulering zouden een rol kunnen spelen bij het ontstaan en het in stand houden van obesitas.

In de eerste studie (hoofdstuk 2) hebben we de relatie tussen lichaamssamenstelling en de afbraak van vet na stimulering met de β_2 -adrenerge receptor agonist salbutamol onderzocht in geïsoleerde vetcellen. Alle correlaties tussen parameters van de lichaamssamenstelling en parameters van vetafbraak waren negatief, maar niet statistische significant. Daarnaast werd de bijdrage van variatie in codon 16 van het β_2 -adrenerge receptorgen aan de snelheid van de afbraak van vet bestudeerd. Maar door het kleine aantal proefpersonen dat aan deze studie meedeed, waren er geen duidelijke conclusies mogelijk. Bij een deel van de proefpersonen werd de receptor vervolgens ook in vivo gestimuleerd en werd de vetafbraak gemeten. Zodoende was het mogelijk een vergelijking te maken tussen gestimuleerde vetafbraak in geïsoleerde cellen en gestimuleerde vetafbraak in het lichaam. De maximale vetafbraak in geïsoleerde vetcellen was positief gerelateerd met de plasmavetzuurconcentraties na stimulatie. Dit suggereert een relatie tussen in vitro en in vivo metingen van vetafbraak. Echter, correlaties tussen maximale vetafbraak en glycerolconcentraties in het lichaam, alsmede tussen de gevoeligheid van vetafbraak in vitro en veranderingen in vetzuur- en glycerolconcentraties in het plasma in vivo, waren niet significant. Een sterke relatie lijkt dus niet te bestaan.

In een grotere groep proefpersonen (hoofdstuk 3) werd de β_2 -adrenerge receptor in vivo gestimuleerd met salbutamol en werd gekeken naar de invloed van genetische variatie (Gly16Gly, Gly16Arg en Arg16Arg) in het gen

voor de β_2 -adrenerge receptor op de stijging in het energiegebruik en vetafbraak. De mensen met het Arg16Arg genotype vertoonden minder stijging in het energiegebruik dan dragers van de Gly variant. Samen met de verandering in plasma vrije vetzuren verklaarde de genetische variatie in de β_2 -adrenerge receptor 35% van de toename in energiegebruik. Deze bevindingen ondersteunen een mogelijke rol van genetische variatie in de β_2 -adrenerge receptor bij de ontwikkeling en het behoud van overgewicht en obesitas.

Om de invloed van deze genetische variatie verder te onderzoeken, werd in een volgende studie niet alleen de β_2 -adrenerge receptor, maar werden, met behulp van isoprenaline, ook de andere β -adrenerge receptoren (β_1 en β_3) gestimuleerd. Dit lijkt meer op een natuurlijke fysiologische situatie dan het geval is bij selectieve β_2 -stimulatie. Tussen de genetische varianten van de β_2 -adrenerge receptor verschilden de stijging in energiegebruik niet significant. Dit laat zien dat de genetische variatie in de β_2 -adrenerge receptor geen invloed heeft op de isoprenaline-gestimuleerde stijging in het energiegebruik.

In een vierde studie (hoofdstuk vijf) werd een fysiologische situatie gecreëerd door een hoog-koolhydraat maaltijd aan te bieden en zo het sympathisch zenuwstelsel via de voeding te stimuleren. De facultatieve component van de verhoging van het energiegebruik na een maaltijd wordt gemedieerd door activering van het sympathisch zenuwstelsel. De verandering van plasma adrenalinespiegels na de maaltijd verklaarde 32% van de variatie in energiegebruik. De genetische variatie in het β_2 -adrenerge receptoren speelde geen rol van betekenis in de variatie van het energiegebruik. Mogelijk dat de niet-selectieve endogene sympathicusstimulering en de verschillen in adrenalinerespons tussen de genotypes de invloed van de genetische variatie in de receptor heeft teniet gedaan.

Tussen individuen kunnen grote verschillen optreden in gewichtstoename na een overvoedingsperiode. In de laatste studie (hoofdstuk zes) werden proefpersonen op twee verschillende diëten (normaal-eiwit (15 energieprocent) en laag-eiwit (3 energieprocent)) gedurende 7 dagen overvoed (1000 kcal per dag boven de normale inname). Tussen de verschillende diëten was er een significant verschil in de gewichtstoename, waarbij de gewichtstoename op het normaal-eiwit dieet groter was dan op het laag-eiwit dieet. Er werd echter geen verschil gevonden in energiegebruik tussen de twee diëten. Gedurende de laag-eiwit overvoeding kon de kleine, maar niet significante, toename in energiegebruik geen volledige verklaring geven voor het verlies van de extra energie-inname, maar voor de normaal-eiwit overvoeding was alle extra ingenomen energie omgezet in gewicht. Dit korte termijn overvoedingsprotocol is niet in staat gebleken om individuele

verschillen in gevoeligheid voor overgewicht tussen personen aan te tonen. Daarmee was het geen goede functionele test om het verschil in energetische efficiëntie tussen individuen snel te kunnen vaststellen.

Samengevat kan worden gesteld dat de resultaten in dit proefschrift laten zien dat er een invloed kan zijn van het codon 16 polymorfisme in de β_2 -adrenerge receptor op het energiegebruik, wanneer er selectieve stimulering van de β_2 -adrenerge receptor plaatsvindt. Echter, wanneer de stimulatie niet selectief is, is de invloed van het polymorfisme minder groot of zelfs afwezig. Naarmate de afstand tussen de receptoren het bestudeerde eindpunt groter is, zijn er meer factoren die invloed kunnen hebben op dit eindpunt en dus het effect van het polymorfisme kunnen verdunnen. Echter dit sluit niet uit dat op lange termijn een klein effect ten gevolge van de aanwezigheid van een bepaald polymorfisme bijdraagt aan de ontwikkeling van overgewicht.

