

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Obesitas is een groeiend probleem in de westerse maatschappij. In de moderne levensstijl is (calorierijk) voedsel in overvloed aanwezig, en de noodzaak om te bewegen laag. In deze situatie gaan hogere hersengebieden, die bijvoorbeeld betrokken zijn bij het lekker vinden van bepaald voedsel, een steeds grotere rol spelen, waardoor verzadigings signalen genegeerd worden. Hierdoor wordt de homeostatische regulatie verstoord, met als gevolg een stijgend aantal gevallen met overgewicht. Het is daarom van groot belang om meer inzicht te krijgen in de regulatie van energiebalans.

De centrale regulatie van energie homeostasis omvat een complex neuraal circuit, opgebouwd uit verscheidene hersenkernen en neuropeptiden. Farmacologische en genetische studies hebben duidelijk gemaakt dat het melanocortine (MC) systeem en het neuropeptide Y (NPY) systeem een belangrijke rol spelen in deze regulatie van energiebalans (beschreven in hoofdstuk 1). NPY en agouti (een endogene antagonist van het MC systeem) zijn beide eetlustopwekkende neuropeptiden. Chronische toediening van deze peptiden in het brein leiden dan ook tot obesitas, een effect wat mede wordt toegeschreven aan veranderde signalering in de hypothalamus, een hersengebied dat een belangrijke rol speelt in de regulatie van voedselinname en lichaamsgewicht. Ondanks dat er al veel bekend is over deze neuropeptidgerge systemen in de hypothalamus, is het nog niet precies bekend wat hun specifieke rol is in de verschillende hypothalamische kernen.

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift richt zich op de bijdrage van de verschillende gebieden in de hypothalamus van de rat in de door NPY en MC veroorzaakte effecten in de regulatie van energiebalans. Om de plaatselijke effecten van veranderde NPY- of MC signaaloverdracht te bestuderen is gebruik gemaakt van virale gen overdracht. Recombinante adeno-geassocieerde viruspartikels (AAV) kunnen, als een van de weinige virussoorten, ook niet-delende celtypen (zoals neuronen) infecteren en hebben als kenmerk dat het gen van interesse langdurig tot expressie gebracht wordt. Door deze AAV partikels coderend voor NPY of agouti in te spuiten op een van te voren berekende plaats in de hersenen kan een lokale overexpressie van agouti of NPY bewerkstelligd worden in hypothalamische kernen waarvan al bekend is dat ze een belangrijke rol spelen in energiebalans.

Het melanocortine systeem bestaat uit agonisten (stoffen die de MC receptoren kunnen activeren) zoals α -MSH, en antagonisten (stoffen die de MC receptoren kunnen blokkeren) zoals AgRP en agouti. Het is bekend dat verminderde signaaltransductie via de MC4 receptoren, zowel door mutaties in de receptor zelf als door (algehele) overexpressie van agouti, leidt tot obesitas. Om meer duidelijkheid te krijgen welke hypothalamische kernen een rol spelen in de ontwikkeling van obesitas bij verminderde signalering via MC4 receptoren zijn in hoofdstuk 2 de effecten van viraal-gemedieerde overexpressie van agouti in verschillende hypothalamische kernen beschreven. Terwijl overexpressie van agouti in de

paraventriculaire nucleus (PVN) van de hypothalamus vrijwel direct resulteert in een verhoging van de voedselinname, met als gevolg een versnelde toename van lichaamsgewicht, zijn deze effecten na injectie van het AAV-agouti in de dorsomediale kern van de hypothalamus (DMH) pas te zien na drie weken. Overexpressie van agouti in de laterale hypothalamus (LH) daarentegen heeft geen enkel effect op de inname van voedsel en de toename van gewicht, behalve als de ratten een vetrijk dieet te eten krijgen.

Een andere benadering om meer inzicht te krijgen in de lokale rol van het MC systeem in de regulatie van energiebalans zou zijn om α -MSH tot overexpressie te brengen in de hypothalamische kernen. Omdat α -MSH een vrij lage affiniteit voor de MC4 receptor heeft, zouden hoge concentraties van het peptide nodig zijn om effecten te bewerkstelligen. Omdat bekend is dat multimerisatie van peptiden de affiniteit voor receptoren kan verhogen, zijn in hoofdstuk 3 de bouw en farmacodynamische eigenschappen van multimeer α -MSH beschreven. De resultaten laten zien dat naast de affiniteit om aan de MC4 receptor te binden, ook de effectiviteit om deze receptor te activeren verbetert bij de multimerisatie van α -MSH. Toekomstig onderzoek zal moeten uitwijzen of AAV vectoren coderend voor dit multimeer α -MSH ook in de rat in staat zijn om de MC4 receptor te activeren en zo meer duidelijkheid te geven in de lokale rol van het MC systeem in energiebalans.

De resultaten in hoofdstuk 4, 5 en 6 laten de effecten van NPY overexpressie in de PVN en LH op de ontwikkeling van obesitas zien. Hoofdstuk 4 beschrijft de effecten van een drie weken durende NPY overexpressie in de PVN. Naast een specifieke toename van eetgedrag in de lichtfase, veroorzaakt verhoogde NPY signalering in de PVN ook een afname in energieverbruik, gemeten in een verlaagde lichaamstemperatuur en activiteit van de ratten. Daarnaast wordt, nog voordat een effect op voedselinname duidelijk is, de secretie van insuline en leptine bevorderd. Samen resulteert dit in een zeer snelle ontwikkeling van obesitas.

In verdere studies is onderzocht wat de effecten van verhoogde NPY expressie op langere termijn zijn (hoofdstuk 5). In tegenstelling tot een verhoogde agouti expressie in de PVN, wat een blijvend effect heeft op voedselinname, heeft een overexpressie van NPY in de PVN maar een tijdelijk effect op eetgedrag. Vier weken na injectie van de virus partikels normaliseert de hoeveelheid geconsumeerd voedsel, evenals de (dagelijkse) toename in gewicht. Pair-fed studies (waarin de voedselinname van de met AAV-NPY geïnjecteerde ratten gelimiteerd wordt tot die van de met controlevirus geïnjecteerde ratten) wijzen uit dat de effecten afnemen wanneer een bepaald lichaamsgewicht bereikt is. Dit wijst erop dat NPY signalering in de PVN een rol speelt in de regulatie van een setpoint in gewicht.

In hoofdstuk 6 worden de effecten van vijftig dagen NPY overexpressie in de PVN en de LH vergeleken. AAV-NPY injecties in de LH resulteren in een vergelijkbaar fenotype als beschreven voor de PVN. Echter, de effecten op voedselinname zijn blijvend. Daar komt bij dat, terwijl een verhoogde NPY signalering in de PVN tot gevolg heeft dat alleen de

maaltijdfrequentie toeneemt (zonder dat de maaltijdgrootte beïnvloed wordt), NPY overexpressie in de LH resulteert in zowel meer als grotere maaltijden.

Het gebruik van virale gen overdracht om de expressie van genen te veranderen is nog relatief nieuw. In hoofdstuk 7 is deze techniek vergeleken met de meer conventionele strategieën die gebruikt worden om meer inzicht te krijgen in de regulatie van energiebalans. Het grote voordeel van virale gen overdracht is dat injecties van adeno-geassocieerde virale (AAV) partikels in een volwassen rat resulteren in een stabiele, langdurige overexpressie van het gewenste neuropeptide. Hierdoor worden compenserende aanpassingen, die plaats kunnen vinden wanneer genexpressie wordt veranderd tijdens de ontwikkeling (in knockout en transgene modellen), gepasseerd. Ook kunnen de effecten van chronische veranderingen in concentraties van de neuropeptiden in een specifieke kern bestudeerd worden, wat niet mogelijk is bij infusie van de peptiden in de ventrikels (niet lokaal) of lokaal (niet chronisch).

In hoofdstuk 8 worden de resultaten van dit proefschrift samengevat. De beschreven resultaten geven aan dat NPY en agouti, ondanks de functionele overeenkomsten op het eerste gezicht, toch uit elkaar gehaald kunnen worden na een nauwlettende analyse. Daar komt bij dat de precieze functies van deze neuropeptiden afhangen van de hypothalamische kern waarin ze tot expressie komen. In de PVN bijvoorbeeld is zowel het NPY als het MC systeem overduidelijk van belang voor de regulatie van voedselinname zelf, ookal verschilt de mate en duur van de geobserveerde effecten. De LH daarentegen lijkt meer een rol te spelen in aspecten die de voedselinname beïnvloeden, zoals het 'lekker vinden' (via het MC systeem, zie hoofdstuk 2) of motorpatronen die voorafgaan aan eten (via het NPY systeem, zie hoofdstuk 6).

Tenslotte kan gezegd worden dat de virale benadering waarvoor gekozen is in dit proefschrift, inderdaad een goede methode is om de lokale rol van neuropeptiden in de hypothalamus te bestuderen. Verder onderzoek met behulp van virale vectoren kan, zeker in combinatie met de meer conventionele technieken, een beter inzicht geven in de regulatie van energiebalans, en daarmee hopelijk bijdragen aan strategieën om het aantal individuen met obesitas te verminderen.

