

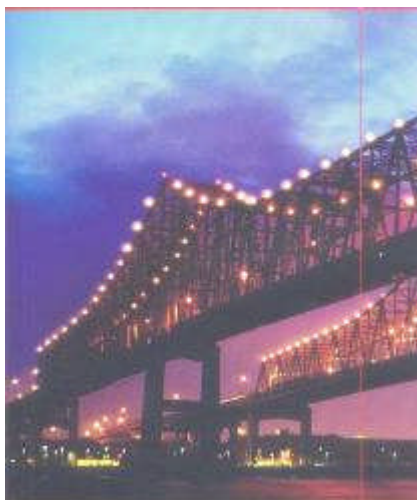
Zeer cardiovasculaire wetenschappelijke sessies.....	1
Zwaarlijvigheid en diabetes type 2: sleutelrol van de darmflora en therapeutische perspectieven ...	9

American diabetes association, 2009, New Orleans

Zeer cardiovasculaire wetenschappelijke sessies

Dominique-Jean Bouilliez

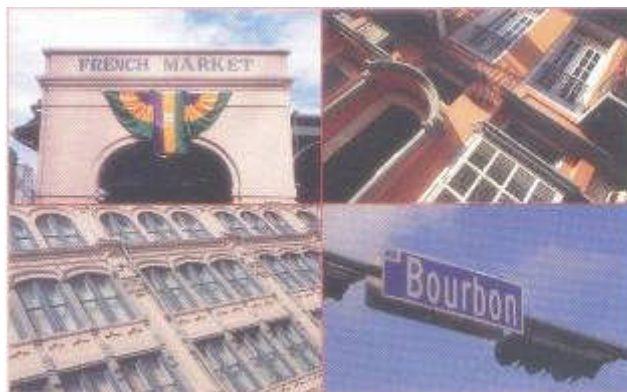
Medi-Sfeer, jaargang 19, 24 oktober – 7 oktober 2009, nummer 338, pg. 21-25



De wetenschappelijke sessies van de American Diabetes Association waren een goede mix van fundamentele en klinische studies, waaronder meerdere studies over het cardiovasculaire risico bij diabetici en de behandeling ervan. Een gesprek met professor Martin Buyschaert (St-Luc, UCL) en professor Chantal Mathieu (UZ Gasthuisberg, KULeuven).

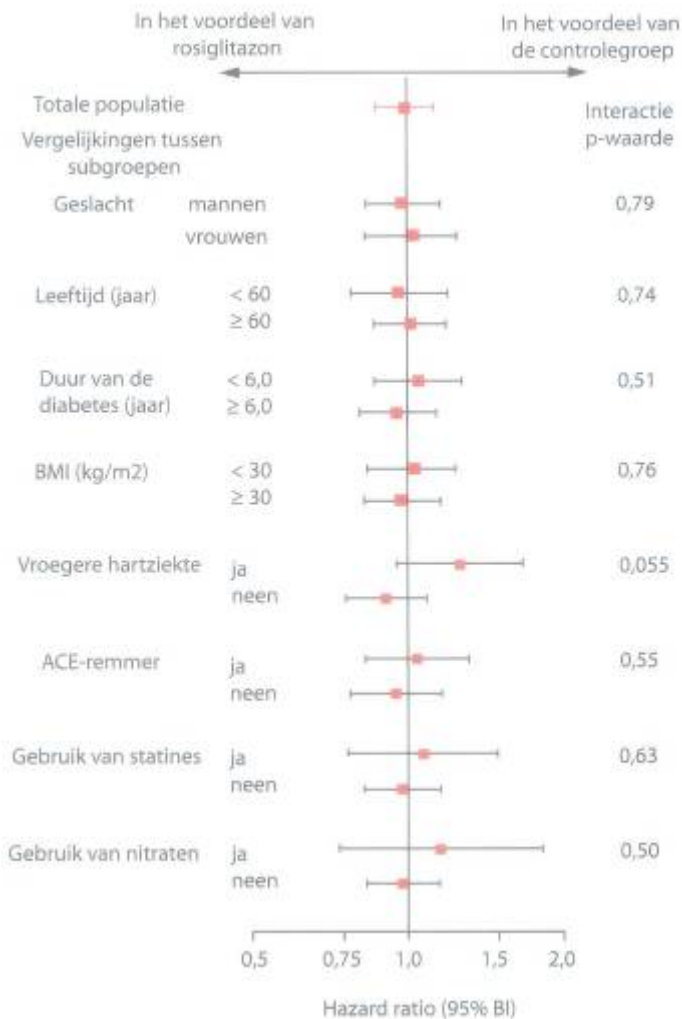
Een geruststellend RECORD

De definitieve resultaten van de RECORD-studie werden gepresenteerd op een plenaire zitting met een 'recordaantal' toehoorders. In die studie werd het effect van een combinatie van rosiglitazon plus metformine of een sulfonylureumderivaat op de incidentie van cardiovasculaire evenementen vergeleken met dat van een combinatie van metformine en een sulfonylureumderivaat bij type-2-diabetici die niet onder controle waren (HbA1c tussen 7,0 en 9,0%) met een van die orale antidiabetica in monotherapie. De studie zou normaal gezien 5 tot 7 jaar duren. "Na de publicatie van de weliswaar omstreden meta-analyse van Nissen en Wolski, volgens dewelke rosiglitazon het risico van myocardinfarct en cardiovasculaire sterfte zou verhogen, werd een tussentijdse analyse van de RECORD-studie uitgevoerd en gepubliceerd. Die tussentijdse analyse was niet voorzien in het protocol", legt prof. Buyschaert uit. "Bij die tussentijdse analyse na een gemiddelde follow-up van 3,5jaar kon geen solide conclusie worden getrokken wegens de beperkte statistische kracht, maar er werd alleszins geen hogere cardiovasculaire of totale mortaliteit waargenomen. We kwamen dus niet aan onze trekken. Daarom werd vol ongeduld uitgekeken naar de eindresultaten." Die werden achtereenvolgens gepresenteerd door Philip Home (Groot-Brittannië) wat het rationale van de studie betreft, Stuart Pocock (Groot-Brittannië) wat de methode en de statistische analyse betreft, Michel Komajda (Pitié-Salpêtrière, Parijs) wat de cardiovasculaire resultaten betreft en Henning Beck-Nielsen (Denemarken) wat de metabole resultaten betreft. We komen hier niet terug op de cijfermatige aspecten van de studie, maar we herinneren er enkel aan dat de glykemiecontrole op lange termijn significant beter was in de rosiglitazongroep. Na 5 jaar werd de non-inferioriteit wat het primaire eindpunt betreft (tijd tot ziekenhuisopname of overlijden wegens een cardiovasculair probleem), aangetoond. Er was geen verschil tussen de twee groepen. Er was ook geen significant verschil in de vooraf gespecificeerde eindpunten van overlijden of ziekenhuisopname wegens een cardiovasculair probleem tussen de groepen, behalve wat hartinsufficiëntie betreft (figuur 1). "Maar", aldus prof. Chantal Mathieu (KULeuven), "de incidentie van ziekenhuisopname of overlijden wegens een cardiovasculair probleem was driemaal lager dan verwacht: 2,8% per jaar vs. de verwachte 11% per jaar.



Dat getuigt van een betere totaalaanpak van type-2-diabetici, zoals ook al werd vastgesteld in de andere recente grote interventiestudies.” “Buiten een lichte gewichtstoename, wordt rosiglitazon goed verdragen,” vervolgt prof. Buyschaert, “wat de artsen moet geruststellen als ze rosiglitazon willen gebruiken bij hun patiënten. Maar dan moeten ze wel de contra-indicaties en de voorzorgen bij het gebruik respecteren. Rosiglitazon wordt immers niet aanbevolen bij patiënten met antecedenten van hartinsufficiëntie of een risico van aantasting van het myocard. Voorzichtigheid is ook geboden bij vrouwen met een hoog risico van fractures.”

Figuur 1: Primair eindpunt per subgroep.

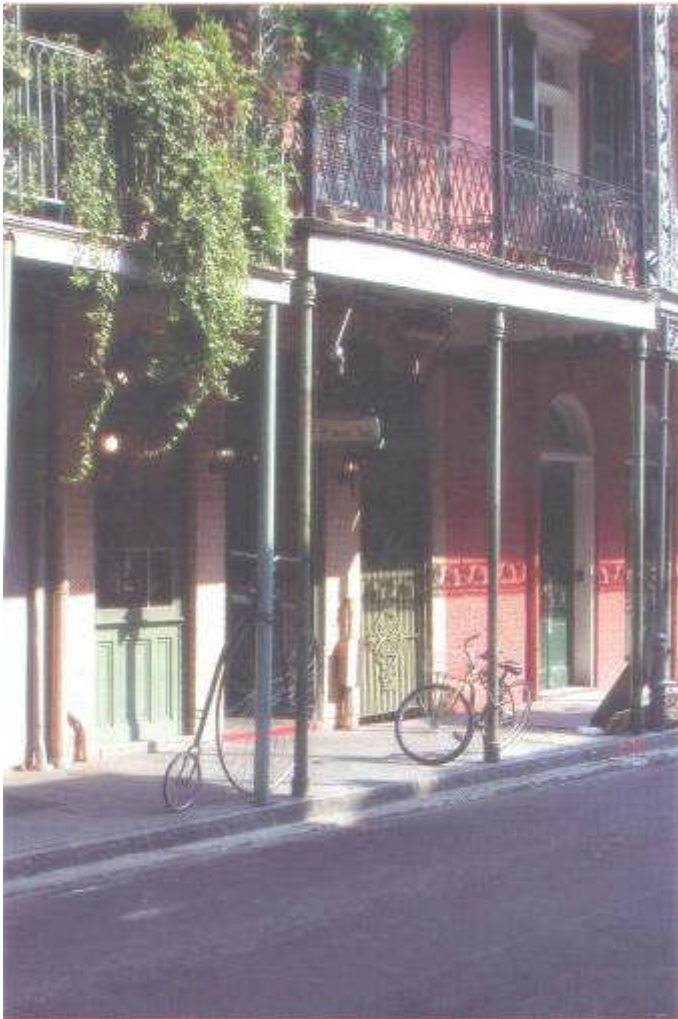


“Ook al is dit geruststellend,” vervolgt prof. Chantal Mathieu, “toch zal ons voorschrijfgedrag niet veranderen na de publicatie van deze studie. Glitazonen verlagen de glykemie, maar zijn niet doeltreffender dan andere antidiabetica, en bovendien verhogen ze het gewicht en het risico van decompensatie en zijn ze duur.”

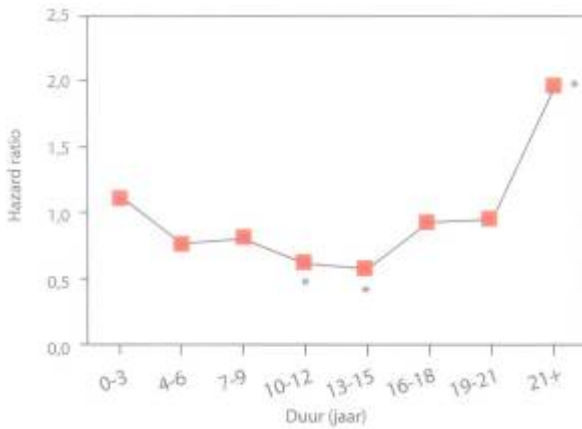
ADVANCE, ACCORD en VADT, boodschappen die in dezelfde richting wijzen

In 2008 werden de resultaten gepubliceerd van drie grote interventiestudies: de studies ACCORD, VADT en ADVANCE. In deze studies werd een intensieve glykemiecontrole vergeleken met een standaardcontrole. Ze werden uitgevoerd bij patiënten met een hoog cardiovasculair risico. De resultaten hebben een levendig debat in gang gezet. Want hoewel het HbA1c in de groepen met een intensieve controle significant daalde, kon in geen enkele studie een significante daling van de cardiovasculaire evenementen en/of de mortaliteit worden aangetoond. Meer nog, de ACCORD-

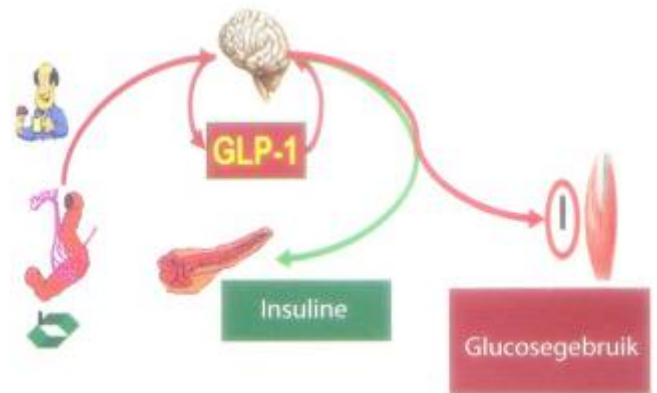
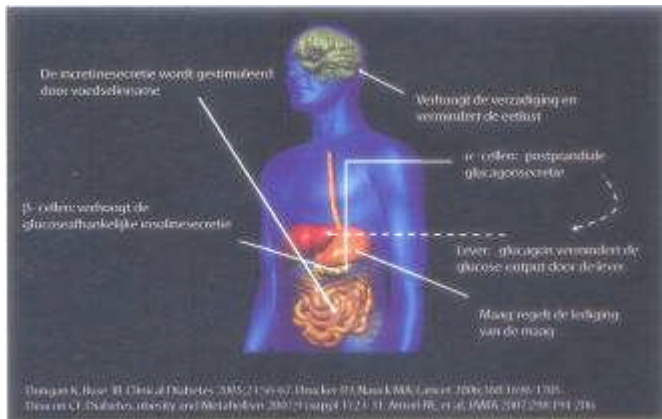
studie werd na een follow-up van 3,4 jaar voortijdig stopgezet wegens een hogere sterfte in de intensief behandelde groep. “Er werden toen meerdere hypothesen naar voren geschoven om de verhoogde sterfte te verklaren”, zegt prof. Buyschaert: “te hoge gewichtstoename, ernstige hypoglykemie onder intensieve behandeling, te lage glykemie. Maar bij een a posteriori-analyse van de ACCORD- en VADT-studies, kon die laatste hypothese worden ontkracht en werd integendeel aangetoond dat een te hoog HbA1c schadelijk is.” Bij een post hoc-analyse van de ACCORD-studie werd aangetoond dat de verhoogde sterfte significant correleerde met drie initiële criteria: een HbA1c 8,5%, antecedenten van perifere neuropathie en gebruik van aspirine. Een perifere neuropathie zou kunnen getuigen van een autonome neuropathie van het hart, die bij hypoglykemie dodelijke ritmestoornissen zou kunnen veroorzaken. Bijgevolg luidt de eerste boodschap die de auteurs van de ACCORD-studie de wereld insturen, als volgt: bij diabetici met een perifere neuropathie moet niet worden gestreefd naar een HbA1c < 7%. “Maar de belangrijkste conclusie van de post hoc-analyse van de ACCORD-studie, is eerder dat het cardiovasculaire risico toeneemt naarmate het HbA1c op het eind van de studie verhoogd is”, constateert prof. Buyschaert. “En de hogere sterfte werd waargenomen bij de patiënten in de intensief behandelde groep bij wie het niet gelukt was om de glykemie te verlagen.” Bij een post hoc-analyse van de VADT-studie werd het belang van de duur van de diabetes belicht. Als de diabetes al 4 tot 15 jaar bestaat, verlaagt een intensieve behandeling het cardiovasculaire risico en de sterfte. Als de diabetes al 16 tot 20 jaar bestaat, is het effect neutraal. Maar als de diabetes al meer dan 20 jaar bestaat, verdubbelt het cardiovasculaire risico (figuur 2). “We zijn met andere woorden te laat gestart met de optimalisering van de behandeling bij die patiënten”, besluit hij.



Figuur 2: Effect van de duur van de diabetes op het primaire eindpunt.



Moeten we het HbA1c gebruiken voor screeningsdoeleinden zoals wordt aanbevolen door de ADA?
 “Ik ben sceptisch, ook al is het duidelijk dat het HbA1c-gehalte geen slechte diagnostische merker is. Maar de dosering van geglycosyleerde hemoglobine is niet gestandaardiseerd. We moeten dus kunnen beschikken over een goed en betrouwbaar laboratorium. Bovendien kost die analyse wel wat, terwijl een van de beste screeningsmethoden uiteindelijk de kliniek is. Diabetes komt overigens zeer vaak voor bij mensen van middelbare leeftijd met hypertensie en obesitas.”
Prof. Martin Buyschaert



Figuur 3: Incretines oefenen invloed uit op tal van functies bij de mens. Figuur 4: Het fysiologische concept.

Probiotica: antidiabetica van de toekomst?
 “Probiotica vormen een opmerkelijk spoor, dat werd geopend door Nathalie Delzenne en Fabrice Cani. Zij hebben aangetoond dat pro biotica de darmflora wijzigen, afhankelijk van het type voeding. Vette voeding speelt een schadelijke rol. Dat zou kunnen uitmonden in een verandering van de permeabiliteit van de darmen en daardoor absorptie van stoffen die meerdere ontstekingsparameters zouden kunnen stimuleren (zoals bijvoorbeeld blijkt uit het verband tussen obesitas en het CRP-gehalte). Dat is een interessant denkspoor, maar we hebben nog maar weinig gegevens bij de mens.”
Prof. Martin Buyschaert

“In de UKPDS-studie daarentegen werden type-2-diabetici gerekruteerd op het ogenblik dat de diagnose werd gesteld. Minder dan 10% van die patiënten had een cardiovasculair probleem. En na een follow-up van de UKPDS-studie van 20 jaar, waren de effecten van de intensieve behandeling duidelijk gunstig.” De boodschap is dus duidelijk: we moeten type-2-diabetici zo snel,

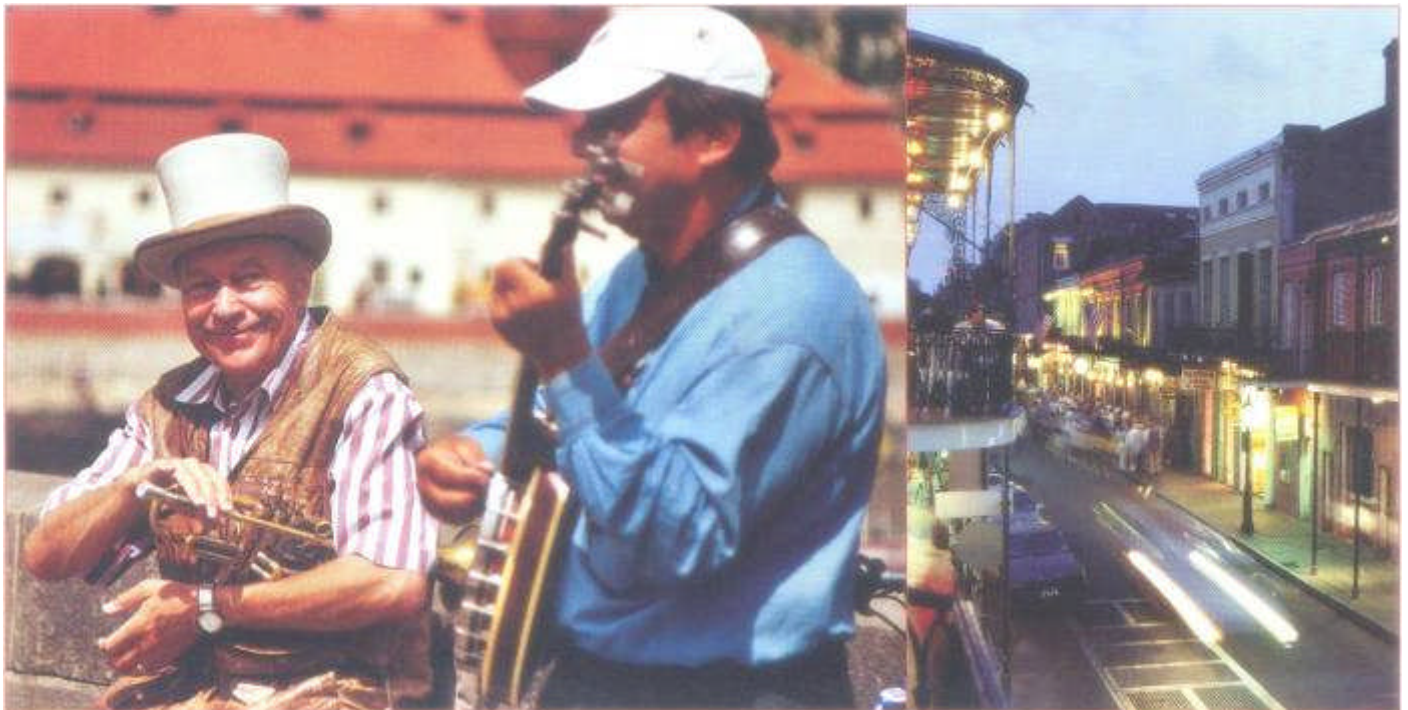
zo adequaat en zo agressief mogelijk behandelen en we mogen zeker niet wachten totdat cardiovasculaire problemen optreden om een agressieve behandeling te starten.

Wat moeten we doen als orale antidiabetica falen? Moeten we dan incretines voorschrijven of eerder insuline?

Elke houding heeft haar aanhangers en de wetenschappelijke fundamenteën om die houding te wettigen. “Maar”, aldus prof. Buyschaert, “een behandeling met insuline wordt nog al te vaak gezien als een straf. We moeten dus proactiever zijn: een HbA1c van 8,0% is niet meer aanvaardbaar, we moeten absoluut streven naar 7,0%. In België moeten we bovendien rekening houden met de terugbetalingsvoorwaarden. We moeten wachten met het voorschrijven van een incretine, ook als het HbA1c-gehalte hoger blijft dan 7,5% ondanks een behandeling met een sulfonylureumderivaat en metformine.” Blijft er het probleem van de gewichtstoename onder insulinetherapie. “Toevoeging van een incretine, dat een effect uitoefent op de secretie van de β -cellen, maar ook op de insulineresistentie en dat bovendien het gewicht verlaagt, is intellectueel redelijk en aantrekkelijk. De incretines hebben ook een gunstig effect op de lipiden en een effect op de bloeddruk (vooral de systolische), op het verzadigingsgevoel (via een interessant centraal mechanisme) en op het hs-CRP”.

Heeft GLP-1 een pleiotroop effect?

Naast zijn effect op de glucosehomeostase, blijkt GLP-1 ook pleiotrope effecten te hebben (Figuur 3). GLP-1 gaat door de bloed-hersenbarrière en wordt afgescheiden door de hersenen, waar zich de receptoren bevinden. Het werkt in op het verzadigingsgevoel, ongeacht zijn effect op de maaglediging. Tijdens een maaltijd zorgt GLP-1 ervoor dat een groot deel van de glucose weer naar de lever wordt gestuurd door het glucoseverbruik door de spieren te verlagen, door de insulinesecretie te stimuleren en door de glucosetolerantie te verbeteren via een direct en centraal effect (figuur 4). Maar GLP-1 beschermt ook het hart, zegt prof. Chantal Mathieu: “GLP-1 remt de proapoptose en vermindert zo de grootte van een myocardletsel dat wordt veroorzaakt door ischemie-reperfusie. Het verbetert ook de ventrikelfunctie en verhoogt het glucoseverbruik door het myocard. Dat effect wordt gemedieerd door de GLP-1-receptoren van het hart.



De expressie van die receptoren neemt toe bij ventrikelsufficiëntie. GLP-1 oefent een direct effect uit op het glucosetransport in de spieren en op het glycogeensynthetase van de lever. Volgens sommige studies zouden metaboliëten van GLP-1 diabetische complicaties voorkomen door de vorming van zuurstofradicalen af te remmen.”

DDP-4-remmers en GLP-1-analogen: verschillen en gelijkenissen

Er zijn veel verschillen tussen de vier DDP-4-remmers (sitagliptine, vildagliptine, saxagliptine, alogliptine): scheikundige structuur, selectiviteit, type binding aan de DDP-4-receptor (al dan niet covalente binding, directe binding of binding via een substraat van DDP-4, duur van de remming en al dan niet reversibel karakter van de remming, percentage remming gedurende 24 uur, eliminatiehalfwaardetijd, directe renale eliminatie of eliminatie door hydrolyse en metabolisatie in de lever, al dan niet vorming van [actieve of inactieve] metaboliëten, kenmerken van werking op GIP [dat ook inwerkt op het onderhuidse vetweefsel en de bot-cellen]...). “Sommige van die effecten zouden anders kunnen worden beïnvloed naargelang de toegediende dosering,” legt prof. Buyschaert uit, “maar hun klinische relevantie is nog niet duidelijk. We weten wel dat sitagliptine in combinatie met metformine goede resultaten geeft bij type-2-diabetes. Sitagliptine veroorzaakt minder hypoglykemie dan sulfonyleureumderivaten en is dan ook bijzonder interessant in de geriatrie, ook al omdat metformine een verhoogd risico van nierinsufficiëntie inhoudt. In vergelijking met andere DDP-4-remmers biedt sitagliptine het theoretische voordeel dat het zeer selectief is (de rol van DDP-8 en -9 bijvoorbeeld is nog niet bekend). En ten opzichte van de andere klasse van incretines biedt het het voordeel dat het per os kan worden toegediend.” Er zijn veel verschillen tussen DDP-4-remmers en GLP-1-analogen/rGLP-1-receptoragonisten: toediening per os vs. via injectie, fysiologische spiegel van GLP-1 versus farmacologische (maar het effect van de DDP-4-remmers hangt af van het vermogen tot endogene secretie van GLP-1), geen versus wel effecten op de hersenen en de maaglediging (dat verklaart waarom DDP-4-remmers geen invloed hebben op het gewicht, noch bijwerkingen veroorzaken, terwijl GLP-1-analogen/rGLP-1-agonisten het gewicht verlagen, een effect hebben op het verzadigingsgevoel en nausea veroorzaken)...

Anderzijds zijn de verschillen tussen de vele rGLP-1-agonisten (synthetische geneesmiddelen afgeleid van exendine-4: exenatide, lixisenatide...) en synthetische GLP-1-analogen (liraglutide, taspoglutide, albiglutide...) nog niet helemaal duidelijk. De ontwikkeling van retardvormen zou het verschil kunnen maken. “Exenatide eenmaal per week blijkt veel comfortabeler te zijn voor de patiënten. Maar de vraag is of er geen bijwerkingen zullen optreden, die we nu nog niet kennen. Liraglutide één injectie daags verlaagt de glykemie en heeft een gunstig effect op het gewicht en het verzadigingsgevoel. Maar het verhoogt het calcitoninegehalte en de incidentie van schildklierkanker, mogelijk doordat de schildklier GLP-receptoren bevat. Maar dat werd enkel waargenomen bij dieren en nog niet bij de mens.”

Type-1-diabetes: een omgevingsziekte?

De darmen zijn een belangrijke plaats van contact tussen de omgeving en het lichaam. Daarom zijn probiotica en prebiotica interessante denksporen, althans bij de preventie. “Het probleem van probiotica is dat ze zeer specifiek zijn”, merkt prof. Mathieu op. “Maar die bacteriën kunnen genetisch worden gemanipuleerd zodat ze bijvoorbeeld pro-insuline en insuline in de dunne darm afgeven.

Ook zouden ze de expressie van bepaalde cytokines kunnen bevorderen en een redistributie van de microflora bewerkstelligen.”

Het is duidelijk dat type-1-diabetes kan worden uitgelokt door virale infecties. Het is evenwel even duidelijk dat het een genetische aandoening is, maar de agressiviteit van de presentatie kan variëren onder invloed van omgevingsfactoren. De TRIGR-studie (Trial to Reduce IDDM in the

Genetically at Risk) werd op touw gezet nadat observatiestudies hadden aangetoond dat kinderen die borstvoeding kregen, iets minder vaak type-1-diabetes ontwikkelden. “Nagenoeg tegelijkertijd”, vervolgt prof. Mathieu, “is de fundamentele research zich beginnen te interesseren voor de rol van koemelkproteïnen bij diabetes bij dieren. De interesse voor koemelk werd aangewakkerd door het feit dat de gehumaniseerde melk voor zuigelingen die gebaseerd is op koemelk, het vreemde, intacte eiwit is dat baby’s het vaakst innemen. Bij dieren die gehydrolyseerde eiwitten kregen in plaats van vreemde, intacte eiwitten, was de incidentie van type-1-diabetes lager. Om een soortgelijk verband te onderzoeken bij de mens, werd de TRIGR-studie opgezet om na te gaan of een latere blootstelling aan intacte voedselproteïnen het risico van ontwikkeling van type-1-diabetes later in het leven verlaagt. Alle baby’s in de studie zullen borstvoeding krijgen gedurende minstens de eerste zes levensmaanden. Als de moeder verkiest om de borstvoeding te vervangen door een gehumaniseerde melk of om de baby voor de leeftijd van acht maanden te spenen met gehumaniseerde melk, wordt haar baby naar een van de twee groepen gerandomiseerd. Eén groep baby’s zal een speciaal voor de studie ontwikkelde gehumaniseerde melk krijgen die gebaseerd is op een sterk gehydrolyseerd eiwit (waarvan de fragmenten waarschijnlijk te klein zijn om het immuunsysteem te stimuleren). De andere groep zal een speciaal voor de studie ontwikkelde gehumaniseerde melk krijgen die een geringere hoeveelheid gehydrolyseerde eiwitten bevat.”

Vitamine D en diabetes: veelbelovende links

De bètacellen bevatten vitamine-D-receptoren. Vitamine D is noodzakelijk voor de productie en de secretie van insuline. Behandeling van bètacellen met 1,25-di-OH-vit D, de actieve vorm van vitamine, remt de secretie van chemokines die de bètacellen vernietigen. “Al in de jaren zeventig werd een mogelijk verband tussen vitamine-D-tekort en verminderde glucosetolerantie geopperd”, legt prof. Chantal Mathieu uit. “Normale concentraties van calcium en vitamine D blijken inderdaad noodzakelijk te zijn voor een normale werking van de bètacellen. Vitamine D blijkt ook gunstige effecten te hebben op de werking van insuline via een effect op de insulinegevoeligheid van de doelcellen. Maar bij genetisch gewijzigde muizen die hun vitamine-D-receptor inactiveren, werden tegenstrijdige resultaten verkregen. Sommige groepen gewagen van een normaal glucosemetabolisme bij die muizen en andere spreken van ernstige afwijkingen. Er werden enkele klinische studies uitgevoerd waarin vitamine-D-supplementen werden toegediend aan patiënten met prediabetes. In die studies werden positieve effecten vastgesteld bij de glykemiecontrole. Maar het is moeilijk om die resultaten goed te evalueren, omdat de toegediende doseringen sterk



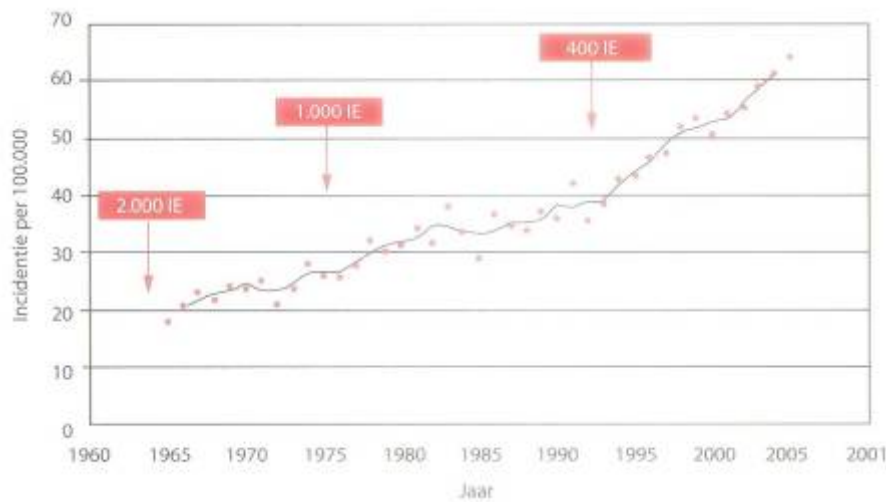
verschilden van studie tot studie. We mogen dus besluiten dat detectie en behandeling van vitamine-D-tekort bij mensen die een risico lopen op een dergelijk tekort (na obesitaschirurgie bijvoorbeeld), uitermate belangrijk zijn voor de gezondheidstoestand van de beenderen en voor het glucosemetabolisme.”

Kortom, vitamine D regelt niet alleen het calcium- en bot-metabolisme, maar speelt een rol in tal van processen (bescherming van het hart, invloed op het immuunsysteem, ontsteking, ontstaan van kanker) via een ubiquitaire receptor in de celkern.

“En dat geldt zowel voor type-2-diabetes als voor type-1diabetes”, vervolgt ze. “In de Nurse Study bijvoorbeeld verlaagde de inname van meer dan 800E vitamine Den 1.200mg calcium per dag het risico van type-2-diabetes, met een synergetisch effect tussen de twee

factoren. Bij gebrek aan interventiestudies is het niet duidelijk of vitamine D een risicomerker is dan wel een oorzakelijke factor. Voor type-1-diabetes werd in de EURODIAB-studie aangetoond dat het risico van diabetes 30% lager was bij de kinderen die vitamine-D-supplementen kregen. In Finland steeg de incidentie van type-1-diabetes naarmate de aanbevolen dosering van vitamine-D-supplementen werd verlaagd (figuur 5)."

Figuur 5: Incidentie van type-1-diabetes en vitamine D. Aanbevolen supplementen in Finland.



Harjutsalo, et al. Lancet 2008, Tuennlehto et al. Diabetologia 1998.

Zwaarlijvigheid en diabetes type 2: sleutelrol van de darmflora en therapeutische perspectieven

Dominique-Jean Bouilliez

Medi-Sfeer, jaargang 19, 24 oktober – 7 oktober 2009, nummer 338, pg. 28-31

In Gut ⁽¹⁾ verscheen een artikel van Belgische auteurs (UCL in samenwerking met de universiteit van Gent). Ze baseren zich op origineel onderzoek dat nieuwe therapeutische perspectieven schept en ze snijden een onderwerp aan dat rechtstreeks verband houdt met het cardiovasculaire domein: zwaarlijvigheid en diabetes type 2. Om te begrijpen hoe een prebioticum de praktijk van cardiologen en enterologen zou kunnen veranderen, moesten we een kleine omweg maken langs het laboratorium van de 'Unité de Pharmacocinétique, Métabolisme, Nutrition et Toxicologie' van de UCL met prof. Nathalie Delzenne en dr. Patrice Cani.

Onderzoek naar de rol van voedingsstoffen in de samenstelling van de darmflora is geen recente aangelegenheid. Het concept dateert al van 1995. Eén van deze voedingsstoffen, de prebiotica, zijn onverteerbare voedingsbestanddelen die een heilzaam effect hebben op hun gastheer doordat ze de groei en/ of de activiteit van één of een beperkt aantal bacteriën in het colon stimuleren en zo de gezondheid van hun gastheer verbeteren.

Over muizen en mensen ...

"We hebben besloten om de mechanismen te onderzoeken die deze bestanddelen in staat stellen om, door de darmflora te wijzigen, een systemisch effect uit te oefenen, ergens anders dus dan in het spijsverteringskanaal als dusdanig", legt prof. Delzenne uit. We deden al onderzoek naar voedingsvezels en aangezien prebiotica verwant zijn met deze voedingsstoffen, besloot het laboratorium voor toxicologie van de UCL uit te zoeken of deze voedingsvezels van een nieuw type een heilzaam of nadelig effect kunnen hebben op de gezondheid. We weten ondertussen dat de klassieke voedingsvezels de absorptie van verschillende mineralen verminderen. "En we stelden tot onze verbazing vast dat calcium en magnesium net wél beter werden opgenomen, meer in het bijzonder wanneer we een prebioticum van het oligosacharidetype toedienden", vervolgt ze. Tegelijk, en ook omdat vezels zoals geweten de lipidenparameters in het bloed kunnen wijzigen, besloot het Leuvense team deze parameter te bestuderen. "Ook hier konden we op diersmodel bewijzen dat de lipidenconcentraties in het bloed en de lever daalden."

De rode draad door hun huidig onderzoek stond dan ook vast. Te meer daar deze onderzoeken werden bevestigd door andere onderzoeksteams die konden aantonen dat men, door de absorptie van calcium te verbeteren met een prebioticum, een verbetering van de botmassa kon bekomen, indirect via een wijziging van de flora. Restte nog om de lipidenparameters te onderzoeken op meer uitgewerkte muismodellen en in dit geval op experimentele modellen van diabetes en zwaarlijvigheid.

Door de darmflora te wijzigen, worden systemische effecten uitgeoefend die 'nutritionele stress' kunnen vermijden

Tal van onderzoeksteams bestuderen met succes de relaties tussen inflammatoire aandoeningen in de darmen en de microbiota. Maar deze teams houden zich zelden of nooit bezig met ontsteking op systemisch niveau. "Uit verschillende doctoraatsproefschriften uitgevoerd in het laboratorium is overigens gebleken dat er een moleculair verband kon worden vastgesteld tussen gebeurtenissen die zich voordoen in het spijsverteringskanaal en een verbetering van het lipidenmetabolisme." Zo werden korteketenzuren geïdentificeerd, die afkomstig zijn van de fermentatie van bepaalde spijsverteringsbestanddelen. Die zuren bereiken de lever na resorptie en oefenen er antilipogene

metabole effecten uit. “Maar we hebben ook aangetoond dat wanneer men de darmflora wijzigt, men ook de endocriene werking van de darm wijzigt. Dat vertaalt zich in de productie van bepaalde peptiden zoals het GLP-1 na stimulatie van de L-cellen, of endocriene darmcellen. En dat GLP-1 geeft aanleiding tot metabole effecten op dieren.” In de praktijk vertonen de zwaarlijvige, genetisch gewijzigde muizen (om de gevoeligheid van hun GLP-1-receptoren te verliezen) en diegene die experimenteel een GLP-1-remmer krijgen toegediend, geen enkele verbetering op het vlak van gewicht of stofwisseling in geval van toediening van GLP-1. Dat bewijst duidelijk dat er een wisselwerking bestaat tussen de darmflora en de endocriene darmfuncties.

Zou ontsteking van bacteriële oorsprong verantwoordelijk kunnen zijn voor de ontwikkeling van zwaarlijvigheid en diabetes type 2.

“De consumptie van voeding rijk aan vetten gaat gepaard met de ontwikkeling van diabetes type 2 en zwaarlijvigheid; beide houden nauw verband met een weinig intense inflammatoire toestand. Recent hebben we onderzocht hoe een bacteriële factor verantwoordelijk zou kunnen zijn voor de ontwikkeling van zwaarlijvigheid en diabetes bij een vetrijke voeding. We hebben ontdekt dat het lipopolysacharide afkomstig van de Gram-negatieve bacteriën aanwezig in de darm wel eens de ideale kandidaat zou kunnen zijn. Het lipopolysacharide wordt continu aangemaakt in de darm na de lyse van de Gram-negatieve bacteriën en wordt fysiologisch geabsorbeerd en vervolgens getransporteerd van de darm naar de doelweefsels via een lipoproteïneafhankelijk mechanisme. Bovendien stimuleert het lipopolysacharide de afscheiding van pro-inflammatoire cytokines wanneer het zich bindt aan zijn CD 14/TLR4-complex, dat aanwezig is op het oppervlak van de immuuncellen. In overeenstemming met dit concept hebben we aangetoond dat de opname van zeer vetrijke voeding de dominante leden van bacteriepopulaties in de darm van muizen sterk wijzigt. We stelden een spectaculaire afname van het aantal bifidobacteriën en andere darmbacteriën verwant aan de bacteroiden vast. Deze belangrijke wijziging van de darmflora gaat gepaard met een stijging van de endotoxemie, het lichaamsgewicht, het triglyceridegehalte in de lever, diabetes en de inflammatoire toestand.”

Prof. Nathalie Delzenne



“We hebben aangetoond dat een bestanddeel van de wand van bepaalde darmbacteriën, het lipopolysacharide (LPS), ook wel endotoxine genoemd, in het bloed kan terechtkomen bij een vetrijke voeding en bij zwaarlijvigheid (dat verschijnsel werd ‘metabole endotoxemie’ gedoopt).”

Van GLP-1 naar GLP-2, een kleine stap voor de muis...

“Het hier bij laten, zou te gemakkelijk geweest zijn”, gaat dr. Patrice Cani verder, “want we hebben gemerkt dat bij deze dieren, bij wie de GLP-1-receptor uitgeschakeld is en die dus niet in staat zijn om te reageren op het GLP-1, sommige metabole effecten zich ondanks alles voordeden in bepaalde omstandigheden.” Bij muizen die op een vetrijk dieet gezet werden (en waarvan men weet dat het insulineresistentie en zwaarlijvigheid veroorzaakt) en die hun GLP-1-receptoren niet konden uitdrukken, veroorzaakt een wijziging van de flora ondanks alles een ontstekingsremmend effect ter hoogte van de lever, gekenmerkt door variaties in de NF-kB- of IKK- β concentraties. “Met andere woorden, een wijziging van de darmflora veroorzaakt heilzame effecten, zelfs in afwezigheid van GLP-1. Maar wisten niet waarom. “Terzelfder tijd werd in twee papers, gepubliceerd in Nature en in Science, aangetoond dat ontsteking een klassieke marker is voor zwaarlijvigheid en diabetes type 2. Wat dan

weer de vraag opriep naar het verband tussen de wijziging van de flora en leverontsteking bij een zeer vetrijke voeding in modellen van diabetes of zwaarlijvigheid.

Zwaarlijvigheid en diabetes type 2 houden verband met insulineresistentie en worden gekenmerkt door ontstekingsverschijnselen. In 2006 had het Amerikaanse onderzoeksteam van Jef Gordon bij muizen aangetoond dat een verstoord evenwicht in de bacteriële darmflora een bevorderende factor voor zwaarlijvigheid vormde. Eén jaar later toonde het team uit Leuven aan dat een dieet rijk aan vetten de samenstelling van de intestinale microbiota wijzigt en dat de darmflora aan de oorsprong kan liggen van de ontstekingsmechanismen die betrokken zijn bij het ontstaan van insulineresistentie, zwaarlijvigheid en diabetes.

Op weg naar LPS

“Tijdens mijn postdoctoraal verblijf in Toulouse hadden we aangetoond dat muizen zonder LPS-receptor (muizen die KO zijn voor de CD14/TLR4) bestand waren tegen ontsteking door een injectie met LPS (lipopolysachariden) en insulineresistentie ontwikkelden. Het verband tussen LPS en insulineresistentie was dus duidelijk”, gaat het verder. Logisch gezien zou LPS zelfs het verband kunnen zijn tussen de flora en de ontwikkeling van een systemische ontsteking. Metingen van het plasma-LPS toonden vervolgens aan dat een vetrijk dieet de plasmaconcentraties van deze stof verhoogt. “Tegelijk stelden we vast dat de darmflora wel degelijk gewijzigd wordt wanneer men de muizen op een vetrijk dieet zet. Maar tot onze grote verrassing stelden we niet alleen vast dat het LPS steeg maar ook dat het niet de Gram-negatieve bacteriën waren die in aantal toenamen maar de Gram-positieve bacteriën, en dat vooral de bifidobacteriën in aantal afnamen.” In de literatuur was al beschreven dat bifidobacteriën het LPS in de darm konden doen dalen. Het verband met prebiotica werd toen duidelijk: ze verhogen de hoeveelheid bifidobacteriën in de darm.

De samenhang wordt duidelijk

De volgende stap lag voor de hand: we moesten de muizen die op een vetrijk dieet stonden prebiotica toedienen en de evolutie van het LPS-gehalte opvolgen. “Deze behandeling, die 14 weken toegediend werd, bevestigde onze hypothesen, meer in het bijzonder dat een vetrijke voeding de flora wijzigt. Maar ook dat door de toediening van een prebioticum de hoeveelheid bifidobacteriën in de darm volledig kan worden genormaliseerd. Bovendien verhinderen prebiotica de stijging van de LPS-concentratie in het bloed en voorkomen ze geassocieerde metabole stoornissen, waarvan de systemische ontsteking kan worden gemeten aan de hand van de plasmacytokines.” De samenhang is dus duidelijk en de twee verantwoordelijken zitten in de darm.

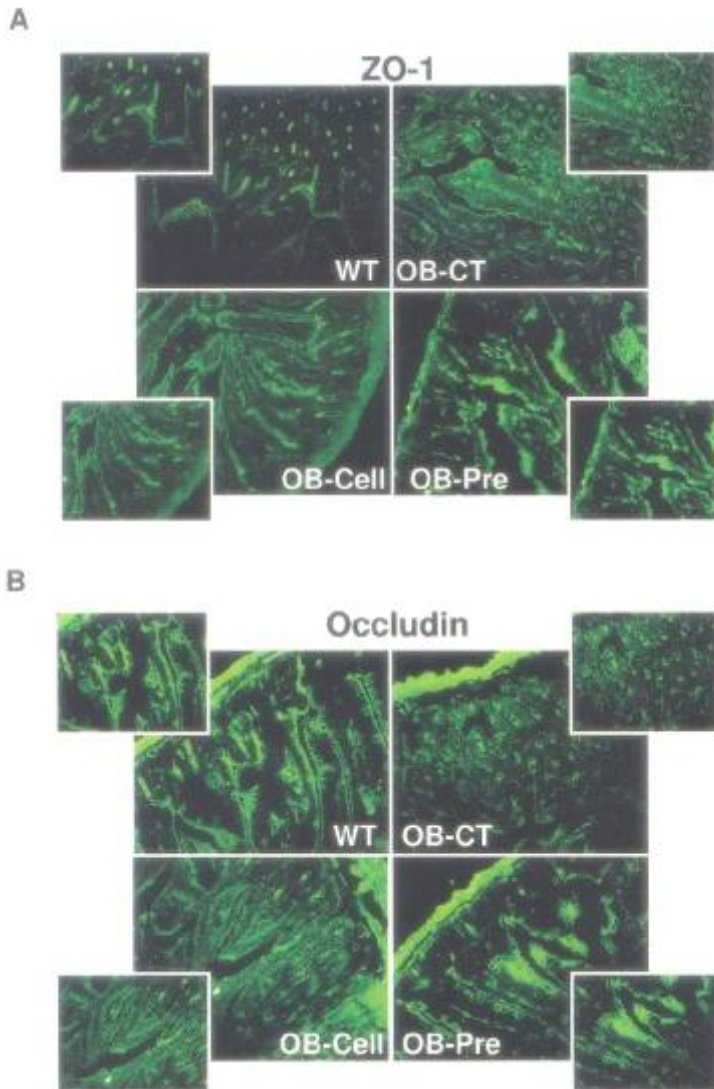
“Vervolgens vroegen we ons af wat het potentieel was van de intestinale permeabiliteit - de darmdoorlaatbaarheid - na een vetrijk dieet”, en we stelden vast dat de intestinale permeabiliteit door dit dieet verhoogd wordt door een aantasting van de proteïnen in de juncties. Aangezien er ook buiten een vetrijk dieet bij ob/ob-muizen (genetisch gemodificeerde obese muizen) een wijziging optreedt in de darmdoorlaatbaarheid, stond het verband tussen zwaarlijvigheid en een vetrijk dieet vast op basis van de permeabiliteit. Restte ons nog om de hypothese te testen dat de darmflora gewijzigd wordt door toediening van prebiotica met het oog op een effect op de darmdoorlaatbaarheid. “Hiervoor hebben we ob/ob-muizen behandeld met een prebioticum. En we konden vaststellen dat door toediening van een prebioticum de darm vrijwel genormaliseerd kon worden.” (figuur 1)

Maar GLP-2 liet nog op zich wachten

Uit studies bij diabetici is gebleken dat het GLP-1 verhoogd wordt door toediening van prebiotica. Het gen dat codeert voor GLP-1, codeert overigens ook voor GLP-2, want beide peptiden zijn het resultaat van de splitsing van proglucagon. Men wist trouwens al dat GLP-2 de proliferatie van het darmepitheel verhoogt en dat bij darmontsteking (Crohn...) een behandeling met GLP-2 de

ontstekingseffecten blokkeert. Bovendien is de stijging van het plasma-GLP-2 perfect negatief gecorreleerd aan de darmdoorlaatbaarheid. “We hebben onze muizen dus behandeld met een specifieke antagonist van de GLP-2- receptor en zo een blokkering aangetoond van de heilzame effecten verbonden aan een wijziging van de darmflora (figuur 2). Dat bewees dat het GLP-2 een essentiële rol speelt in de darmdoorlaatbaarheid.”

Figuur 1: De toediening van prebiotica wijzigt de distributie van smalle juncties.



Representative immunofluorescence staining for (A) ZO-1 and (B) occludin in ob/ob mice fed a normal-diet (Ob-CT), non-prebiotic control diet (Ob-Cell), prebiotic diet (Ob-Pre) for 5 weeks.

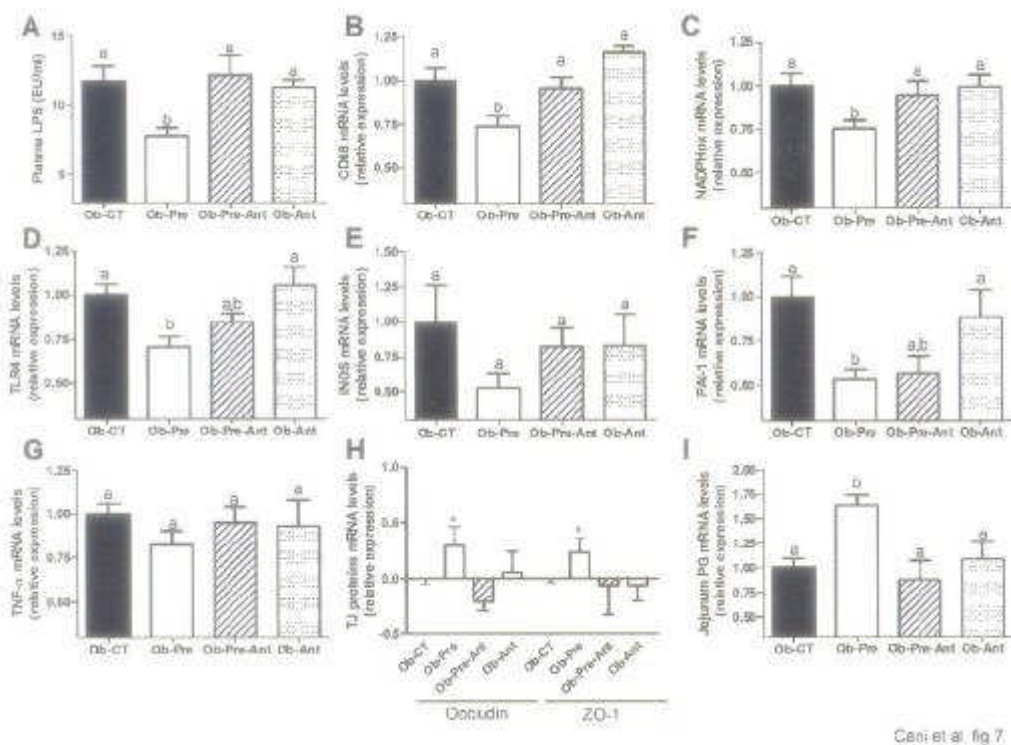
Dankzij de ontwikkeling van GLP-2-agonisten (voor de behandeling van het kortedarmsyndroom) konden ze tevens vaststellen dat de toediening ervan dezelfde effecten heeft als een wijziging van de darmflora op de darmdoorlaatbaarheid, met name door de bacteriële translocatie te blokkeren. Dat opent nieuwe therapeutische perspectieven, voornamelijk voor zwaarlijvige mensen en mensen met diabetes type 2.

“We hebben ook de effecten van een antagonist van de GLP-2-receptoren bestudeerd. Die ontstaat van nature uit de splitsing van de oorspronkelijke molecule door het DPP-IV maar we moesten het synthetiseren om de test te kunnen uitvoeren. Dankzij deze tests konden we al onze hypothesen bevestigen.”

En de toekomst?

“We trachten nu uit te zoeken hoe het GLP-2 geregeld wordt bij zwaarlijvigheid en diabetes, alsook de sensitiviteit ervan. Meer specifiek proberen we te bepalen op welk niveau de wijziging van de darmdoorlaatbaarheid zich voordoet (jejunum? ileum? colon?); en we trachten te verklaren hoe - door de flora te wijzigen in het lage gedeelte van het spijsverteringskanaal - men een zo sterke impact op het hogere gedeelte verkrijgt.

Figuur 2: De chronische toediening van een antagonist van de GLP-2 zwakt de reductie van de endotoxemie en van de hepatische ontsteking ten gevolge van de prebiotica af



(A) Plasma LPS concentrations (EU/ml); (B,D) Macrophage infiltration markers: TLR4, CD68mRNA concentrations; (C,E) Oxidative stress markers: NADPHox, iNOS mRNA concentrations; (F,G) Hepatic inflammation: PAI-1, TNF-mRNA concentrations; (H) Jejunum epithelial tight junction protein markers (ZO-1 and occludin mRNA) concentrations, (I) Jejunum proglucagon mRNA concentrations in ob/ob mice fed a normal-diet and injected twice daily with a saline (Ob-CT), prebiotic diet and injected twice daily with a saline (Ob-Pre), prebiotic diet and injected twice daily with GLP-2 antagonist (ObPre-Ant), normal-diet and injected twice daily with GLP-2 antagonist (Ob-Ant) for 4 weeks. Data are mean \pm SEM. *are significantly different ($P < 0.05$) from Ob-CT and Ob-Pre-Ant according to the Kruskal-Wallis test analysis. Data with different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$), according to the post-hoc ANOVA statistical analysis.

Dat zou ons in staat moeten stellen om de studie die momenteel bij mensen uitgevoerd wordt, en waarin men tracht na te gaan of een wijziging van de darmflora met behulp van prebiotica een invloed heeft op de systemische ontsteking, te staven.” Wat probiotica betreft, zijn er in de Literatuur nog geen bewijzen te vinden dat de toediening van bifidobacteriën de endogene productie van proglucagon en GLP-2 kan wijzigen. Er bestaat duidelijk bewijsmateriaal voor het feit dat ze de doorlaatbaarheid van de darm verbeteren in het kader van chronische darmontstekingen. Men weet overigens dat door de flora te wijzigen in het voordeel van de bifidobacteriën zwaarlijvigheid, ontsteking en diabetes positief beïnvloed worden via de productie van proglucagon en dus van GLP-1 en GLP-2.

De conclusie: een onderzoek dat drie ontdekkingen opleverde

De eerste ontdekking vormt een verklaring voor een oude vraag: hoe kan de darmflora meer LPS in het bloed doen terechtkomen bij zwaarlijvigheid? Het antwoord? De darmmicrobiota van zwaarlijvige muizen zijn niet alleen verschillend van die van normale muizen maar vooral: de darmflora draagt bij tot de aantasting van de darmwand en veroorzaakt er microperforaties. De tweede ontdekking schuilt in het feit dat het mogelijk is om de darmflora bij muizen te manipuleren op een heel specifieke manier, zodanig dat dit fenomeen volledig omgekeerd wordt: niet alleen wordt een verhoogde doorlaatbaarheid van de darm vermeden; ook wordt de aaneenschakeling van gebeurtenissen (LPS dat in het bloed terechtkomt, systemische ontsteking) geblokkeerd en neemt de omvang van het vetweefsel uiteindelijk af met 20%. Door de darmmicrobiota te wijzigen met prebiotica produceert de darm meer GLP-2, een belangrijk hormoon dat de darm beschermt tegen microperforaties.

De derde ontdekking is dat GLP-2 niet alleen het belangrijkste moleculair doelwit is, maar ook dat synthetische analogen van GLP-2 (worden al bestudeerd bij mensen maar niet voor hetzelfde probleem) de darm van zwaarlijvige muizen kunnen beschermen tegen microperforaties en dus de schadelijke evolutie die voortvloeit uit de bacteriële factor, het LPS, kunnen verhinderen.

Referentie

Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. Patrice Cani, Sam Possemiers, Tom Van de Wiele, Yves Guiot, Amandine Everard, Olivier Rottier, Lucie Geurts, Damien Naslain, Audrey Neyrinck, Didier Lambert, Giulio Muccioli and Nathalie Delzenne. Published online 24 Feb 2009; Gut doi:10.1136/gut.2008.165886