

AMSTERDAM EN MAASTRICHT SLAAN HANDEN INEEN VOOR ONDERZOEK

Leidt het uit fase lopen van biologische klokken tot diabetes?

Verstoring van de biologische klok door manipulatie van daglicht en eetpatronen leidt in proefdieronderzoek tot suboptimale energiestofwisseling en uiteindelijk insulineresistentie en diabetes. Wetenschappers uit Amsterdam en Maastricht onderzoeken dit fenomeen gezamenlijk, bij ratten én mensen. Verstoring van het dag-nacht-ritme in mitochondriën in de spieren krijgt speciale aandacht.

Onze '24/7-maatschappij' wordt gekenmerkt door een leefstijl waarin mensen op onregelmatige tijden consumeren en bewegen. Diabetes mellitus type 2 (T2DM) is een welvaartsziekte veroorzaakt door te veel energie-inname en te weinig energieverbruik, maar mogelijk ook door verstoorde slaapwaakritmes.

Prof. dr. Dries Kalsbeek is hoofd van het Laboratorium voor Experimentele Endocrinologie van het Amsterdamse AMC en van origine neurowetenschapper. Tot tien jaar geleden was hij full time verbonden aan het Nederlands Instituut voor Neuroweten-

schappen, daarna nog één dag per week. Vanwege groeiende interesse voor hormonen maakte hij de overstap naar de afdeling Endocrinologie en Metabolisme van het AMC. Ruim 25 jaar geleden begon Kalsbeek met een onderzoek naar de biologische klok. 'Het draaide toen uitsluitend om een gebiedje in de hypothalamus, de suprachiasmatische nucleus (SCN). Van begin af aan analyseerde ik voor mijn onderzoek hormonen als een belangrijke uitleesparameter

voor de activiteit van de biologische klok, later ook glucose- en insulinespiegels. Dat laatste introduceerde me in de wereld van het diabetesonderzoek.'

Moleculaire terugkoppelingen

Inmiddels weten we dat de centrale klok rechtstreeks verbonden is met het netvlies en voortdurend wordt bijgesteld door lichtsignalen. Ook is duidelijk dat (bijna) alle perifere organen moleculaire klokken herbergen, verantwoordelijk voor de regulatie van talloze lichaamsprocessen. 'Het basisprincipe van de moleculaire klok, in de SCN en perifeer, bestaat uit een vertraagd terugkoppelingsmechanisme', aldus Kalsbeek. 'Sterk vereenvoudigd: de eiwitten CLOCK en BMAL1 verhogen overdag de transcriptie van onder meer PER, CRY en NR1D1. In het cytoplasma ontkomen PER en CRY aan degradatie door dimeervorming. Dit PER-CRY-complex remt in de celkern vervolgens BMAL1 en CLOCK, dus zowel transcriptie

'De centrale klok is gevoelig voor licht, perifere klokken zijn dat voor energie'



Prof. dr. A. Kalsbeek is hoogleraar experimentele neuro-endocrinologie. Hij leidt het Laboratorium voor Experimentele Endocrinologie van het AMC in Amsterdam.



Prof. dr. P. Schrauwen is bijzonder hoogleraar Metabole Aspecten van Type 2 Diabetes Mellitus aan de Universiteit Maastricht.

van PER en CRY als NR1D1. Het door NR1D1 gecodeerde REV-ERB- α remt in de celkern transcriptie van BMAL1. Interessant is nu dat REV-ERB- α ook sterk betrokken is bij de regulatie van het energiemetabolisme. Waar dus de centrale klok gevoelig is voor licht, zijn perifere klokken vooral gevoelig voor energie.'

Strategische samenwerking

Prof. dr. Patrick Schrauwen is van oorsprong bewegingswetenschapper. Hij promoveerde in 1998 op onderzoek naar *determinants of energy and substrate metabolism*. Sindsdien leidt hij een onderzoeksteam op de afdeling Humane Biologie van het Maastricht UMC+, met als belangrijk thema het ontstaan van insulineresistentie. In 2008 ontving hij een Vici-subsidie van de NWO voor zijn onderzoek naar de relatie tussen T2DM en een verminderde functie van skeletspiermitochondriën. In 2013 was hij coauteur van een onderzoek dat aantoonde dat in skeletspieren eliminatie van REV-ERB- α leidt tot mitochondriële schade.¹ 'Insulineresistentie ontstaat vooral door vetstapeling in perifere weefsels, in combinatie met slecht werkende mitochondriën. Verder wordt het de laatste jaren steeds evidentier dat veranderingen in circadiaanse ritmes ook bij de mens kunnen leiden tot metabole verstoringen. De vraag is nu in welke mate dit kan bijdragen aan het ontstaan van insulineresistentie en T2DM.'

Strategische zet

Dat Schrauwen en Kalsbeek gezamenlijk een TOP-subsidie hebben ontvangen voor het project *Circadian rhythm of muscle mitochondrial metabolism* komt voort uit een strategische zet. Schrauwen had al eerder, doch vergeefs, een vergelijkbare subsi-

dieaanvraag ingediend. Bij de herkansing bleken de regels veranderd: tegenwoordig eist ZonMW nauwe samenwerking met een andere onderzoeksgroep. Speurend naar een groep met overlappende interesse kwam hij terecht bij Kalsbeek.

'Hier in Amsterdam werken ze veel met proefdieren, voornamelijk mannetjesratten, in Maastricht doen we overwegend onderzoek bij de mens,' vertelt Schrauwen. 'We kijken bijvoorbeeld naar metabole verstoringen die optreden bij T2DM, vooral in spiermitochondriën. In dit gezamenlijk project willen we bestuderen hoe het metabolisme in mitochondriën gedurende het etmaal verloopt en wat er gebeurt als je dat ritme verstoort, bijvoorbeeld door het dag-nachtritme om te draaien in een afgesloten ruimte. De cyclische activiteit van spiermitochondriën kunnen we bij eenzelfde proefpersoon bepalen door achtereenvolgens zo'n vijf spierbiopten af te nemen.'

Eerste experimenten

De SCN is bij mensen uiteraard veel lastiger te bestuderen. Kalsbeek: 'Bij proefdieren kunnen we bijvoorbeeld de SCN uitschakelen en kijken hoe goed de spierklokken nog werken: hebben die de SCN nodig, of werken ze die in bepaalde situaties misschien zelfs tegen? Hier in het AMC is een groot experiment uitgevoerd om te kijken naar voedselinname op verschillende momenten van de dag. Aan het eind zijn de dieren opgeofferd en zijn er verschillende weefsels uit genomen, waaronder skeletspierweefsel. Paul de Goede, in mei gestart als AIO, kijkt nu in eerste instantie in een geselecteerde set genen welke daarvan ritmisch tot expressie komen in dit spierweefsel, en hoe die ritmes worden beïnvloed door dieetkeuze en voedselinname op een verkeerd moment van het etmaal.'

In het Maastricht UMC+ is Jakob Wefers parallel bezig met een experiment bij mensen. Schrauwen: 'We hebben een groep van 12 proefpersonen 24 uur lang gevolgd, aller-

lei metingen gedaan en per individu vijf keer een spierbiopt afgenomen. Hierin hebben we inmiddels mitochondriale functies gemeeten en gaan we binnenkort ook genexpressies bepalen. In Maastricht beschikken we over een aantal metabole respiratiekamers, voorzien van bed, bureau, wastafel en toilet, waarin proefpersonen gedurende het experiment "gevangen" zitten. Zo'n kamertje is luchtdicht: er wordt gecontroleerd lucht binnengelaten en alle gassen worden geanalyseerd. Zo krijgen we een nauwkeurig beeld van het energiegebruik van de proefpersonen, bijvoorbeeld of ze vetten of koolhydraten verbranden. Uiteraard kunnen we ook licht en donker manipuleren. In dit project willen we proefpersonen eerst laten overnachten. Vroeg in de ochtend, als ze nog nuchter zijn, nemen we dan spierbiopten af en voeren we een aantal bepalingen uit, zoals een glucose-clamp om insulinesecretie te meten. Vervolgen gaan we hun dag-nachtritme omdraaien: ze maken een heel lange dag, zoals wanneer je naar Amerika vliegt, en daarna een korte nacht. Vervolgens brengen ze een dag in dit nieuwe ritme door; als ze "gewend" zijn aan dit nieuwe ritme nemen we opnieuw biopten en doen we dezelfde metingen. We introduceren dus eigenlijk een acute jetlag.'

Afstemming

Kalsbeek: 'Hier in het AMC gebruiken we vergelijkbare metabole kooien voor ratten, waarmee we kunnen nagaan hoe het energiemetabolisme verloopt. Ook de clamp-techniek doen we in essentie op dezelfde manier, dus we kunnen onze experimenten uitstekend op elkaar afstemmen.' ←

Referentie

¹Woldt E, Sebt Y, Solt LA, et al. Rev-erb- α modulates skeletal muscle oxidative capacity by regulating mitochondrial biogenesis and autophagy. *Nat Med*. 2013;19(8):1039-46.