

studie naar de rol van subcutaan en visceraal vetweefsel in het mechanisme van obesitas geïnduceerde insuline resistentie

Gepubliceerd: 20-08-2007 Laatste bijgewerkt: 24-08-2024

Het hoofddoel van de studie is het ophelderen van het mechanisme van obesitas-gerelateerde insuline resistentie. Hiertoe zal de relatie bestudeerd worden tussen de verschillende cel typen in visceraal en subcutaan vetweefsel en hoe dit het adipokine...

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving gestopt
Type aandoening	Glucosemetabolismestoornissen (incl. diabetes mellitus)
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON31248

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

insuline resistentie mechanismen in subcutaan en visceraal vet

Aandoening

- Glucosemetabolismestoornissen (incl. diabetes mellitus)
- Ijzer- en sporenelementenmetabolismestoornissen

Synoniemen aandoening

insulin resistentie en suikerziekte

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Universitair Medisch Centrum Groningen

Overige ondersteuning: Ministerie van OC&W

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: adipokines, insuline resistentie, subcutaan vet, visceraal vet

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

De vergelijking tussen subcutaan en visceraal vet m.b.t. de volgende

deelanalyses

kwantitatieve proteomics methode voor het vergelijken van verschillende secretomen.

de interacties tussen macrofagen en adipocyten in humaan vetweefsel

de interacties tussen darmhormonen, korte keten vetzuren en het vetweefsel

voorkomen exosomen geproduceerd door vetweefsel

valideren van gevonden eiwitfactoren in de relatie met BMI

correlatie van gevonden secretomen met serum spiegels

Secundaire uitkomstmaten

zie boven

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Het stijgende aantal patiënten met overgewicht vormt een gezondheidsprobleem op korte en lange termijn. Overgewicht gaat gepaard met een toegenomen risico op onder andere: diabetes mellitus, hartvaatziekten en subfertiliteit. Dit valt voor een groot deel te verklaren door de aan obesitas gerelateerde hyperinsulinaemie, hyperandrogenaemie en dyslipidaemie. Niet alleen de hoeveelheid lichaamsvet maar vooral de verdeling daarvan lijkt genoemde factoren negatief te beïnvloeden. Het is aangetoond dat de metabole activiteit van het visceraal vetweefsel zich van het metabolisme in het subcutaan

vetweefsel onderscheidt. Beide soorten vetweefsel scheiden eiwitten (adipokinen) uit welke betrokken zijn bij de regulatie van het energiemetabolisme in het lichaam, o.a. de regulatie van voedselopname en insuline gevoeligheid. Dit maakt vetweefsel een belangrijk targetorgaan bij het ophelderen van het mechanisme van obesitas-gerelateerde insuline resistentie, het voorstadium van type 2 diabetes. De darm beïnvloedt de adipokine productie d.m.v. peptide hormonen zoals GIP en GLP-1 waarvan is aangetoond dat ze invloed hebben op de insuline gevoeligheid, mogelijk doormiddel van veranderingen in de adipokine spiegels in het bloed. Ook korte keten vetzuren, gevormd door fermentatie processen in het colon, kunnen de adipokine uitscheiding beïnvloeden. Een belangrijke hypothese voor het ontstaan van insuline resistentie gaat er van uit dat obesitas leidt tot een chronische ontsteking van het vetweefsel welke leidt tot oxidatieve stress en tot veranderingen in de productie van adipokinen met als gevolg insuline resistentie in perifere weefsels zoals spier en lever. Behalve adipokinen kunnen ook de recent ontdekte exosomen een rol spelen bij de inductie van insuline resistentie. Exosomen zijn membraan vesicles die geproduceerd kunnen worden door o.a adipocyten. Bij immuuncellen is aangetoond dat exosomen behalve eiwitten ook RNA kunnen bevatten welke de genexpressie door andere cel typen kan beïnvloeden. De mogelijkheid bestaat dat, naast adipokinen, exosomen, geproduceerd door vetweefsel, op deze manier de insuline gevoeligheid van perifere weefsels kunnen beïnvloeden. Deze onderwerpen zullen worden onderzocht in deze exploratieve studie. In een pilot studie is inmiddels de kweektechniek van de humane vetbiopten gevalideerd en beschreven door de onderzoeksgroep. Ook is m.b.v proteomics technologie het secretome (de verzameling van uitgescheiden eiwitten) van het visceraal vetweefsel gekarakteriseerd en gepubliceerd.

Het onderzoek valt binnen het onderzoek van het *Nederlands proteomics platform*, het Top Instituut Pharma* en het speerpunt *Chronisch Zieken* van het UMCG.

Doel van het onderzoek

Het hoofddoel van de studie is het ophelderen van het mechanisme van obesitas-gerelateerde insuline resistentie. Hiertoe zal de relatie bestudeerd worden tussen de verschillende cel typen in visceraal en subcutaan vetweefsel en hoe dit het adipokine profiel beïnvloedt. Met name de interacties tussen macrophagen en adipocyten zullen worden bestudeerd. Hierbij wordt ook gekeken naar de rol van exosomen. Verder zal worden gekeken naar de interacties tussen darmfactoren, zoals de darmhormonen GIP en GLP-1 en korte keten vetzuren, en subcutaan en visceraal vetweefsel.

Om de effecten van de bovengenoemde factoren op het vetweefsel te kunnen vergelijken zal een kwantitatieve proteomics aanpak ontwikkeld worden welke gebruikt maakt van stabiel isotoop gelabelde aminozuren die, ingebouwd in eiwitten, het mogelijk maken om m.b.v. massaspectrometrie verschillen in eiwitexpressie te kunnen kwantificeren.

Om de eiwitten die gevonden zijn m.b.v. de proteomics analyse in vitro te valideren in vivo zullen deze gecorreleerd worden aan de lichaamsvetdistributie, gemeten d.m.v waist-hip ratio en BMI, en serumspiegels van deze factoren.

Onderzoeksopzet

exploratieve studie naar de basale mechanismen van insuline resistentie waarbij gebruik wordt gemaakt van vetbiopten verkregen uit subcutaan en visceraal vetweefsel van patienten die een laparotomie ondergaan wegens gynaecologische aandoeningen.

Materiaal en Methode

Op de operatiedag zal tijdens algehele anesthesie, een nuchter bloedmonster worden afgenomen ten tijden van de narcose. Serum zal worden ingevroren in -80 °C . Een vetbiopt (2-5g) worden genomen van subcutaan (t.h.v. de incisie van de operatiewond) en visceraal vet (omentum). Deze biopten worden in buizen met 200 ml PBS (phosphate buffered saline) + 5mM glucose + 50 µg/ml gentamycine, naar het laboratorium vervoerd. Het weefsel wordt gewogen en in gelijke hoeveelheden verdeeld over petri schalen voor weefselkweek. De weefselkweek procedure wordt uitgevoerd volgens Fried en Moustaid-Moussa¹⁰ en is geoptimaliseerd voor proteomics doeleinden m.b.v. van vetweefsel verkregen van een muismodel voor diabetes type 2 (leptine deficiente ob/ob muis) en m.b.v. humaan subcutaan en visceraal vet. De methode is beschreven in de publicaties van de eigen onderzoeksgroep door Alvarez-Llamas et al.¹² en Szalowska et al.¹³ .M199 medium + 50 µg/ml gentamycine + 60 nM insuline wordt toegevoegd in een verhouding van 10 ml/g weefsel. Weefsels worden gedurende 1 tot 3 dagen gekweekt. Daarna wordt het medium verwijderd en ingevroren (-20 °C en -80°C) voor proteomics analyse. Analyse van de media zal plaats vinden m.b.v. LC-MS/MS. Deze methode is beschreven door Alvarez-Llamas et al.¹². De eiwitten in de media worden hiervoor geconcentreerd m.b.v. ultrafiltratie en daarna gefractioneerd op een SDS-PAGE gel. Het laantje wordt in 30 stukjes gesneden en de eiwitten in de gel stukjes worden gedigesteerd met trypsine. Het digest wordt vervolgens gescheiden op een HPLC en geanalyseerd in een massaspectrometer. Dit levert de eiwitsamenstelling van het kweekmedium op. Het vetweefsel zelf wordt gebruikt voor de analyse van adipokine genexpressie m.b.v. RT-PCR en DNA arrays. Ten behoeve van de serumbepalingen van adipokinen zal gebruik worden gemaakt van commercieel verkrijgbare multiplex ELISA kits voor de beschreven adipokinen.

Inschatting van belasting en risico

De ingreep ten behoeve van het verkrijgen van een subcutaan en visceraal vet biopt geven geen reële risicotoename voor de patiënten die geopereerd wordt voor de gynaecologische ingreep. De biopten worden afgenomen t.h.v. de incisiewond van de ingreep, zijnde de voorste buikwand en het omentum.

Contactpersonen

Publiek

Universitair Medisch Centrum Groningen

hanzeplein 1
9700 RB
NL

Wetenschappelijk

Universitair Medisch Centrum Groningen

hanzeplein 1
9700 RB
NL

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)
65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

Gezonde vrouwen tussen 18-75 jaar, die een abdominale gynaecologische ingreep ondergaan

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

koortsende ziekten

Onderzoeksopzet

Opzet

Type: Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Blinding: Open / niet geblindeerd

Controle: Geen controle groep

Doel: Algemeen wetenschappelijk

Deelname

Nederland

Status: Werving gestopt

(Verwachte) startdatum: 08-10-2007

Aantal proefpersonen: 250

Type: Werkelijke startdatum

In onderzoek gebruikte producten en hulpmiddelen

Registratie: Geen registratie

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO

Datum: 20-08-2007

Soort: Eerste indiening

Toetsingscommissie: METC Universitair Medisch Centrum Groningen (Groningen)

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

Geen registraties gevonden.

In overige registers

Register	ID
CCMO	NL18980.042.07