

Effect van gewichtsverlies door het volgen van een dieet op markers van endotheel dysfunctioneren en inflammatie bij behandelde diabetes type 2 patiënten

Originele publicatie gepubliceerd in *CLINICAL NUTRITION ESPEN*: Berk et al., *Diet-induced weight loss and markers of endothelial dysfunction and inflammation in treated patients with type 2 diabetes*; *Clinical nutrition ESPEN* 15 (2016) 101-108

K.A. Berk ^{a, *}, T.P. Oudshoorn ^a, A.J.M. Verhoeven ^a, M.T. Mulder ^a,
A.J.M. Roks ^a, W.A. Dik ^b, R. Timman ^c, E.J.G. Sijbrands ^a

^a Afdeling Interne Geneeskunde, sectie Vasculaire Geneeskunde en Farmacologie

^b Afdeling Immunologie

^c Afdeling Psychiatrie, sectie Medische Psychologie Erasmus Medisch Centrum Rotterdam, Nederland

* Correspondentie adres:

K.A. Berk

Erasmus MC - Office D435

Postbus 2040

3000 CA Rotterdam

T: +31.10.7031240

k.berk@erasmusmc.nl

Afkortingen

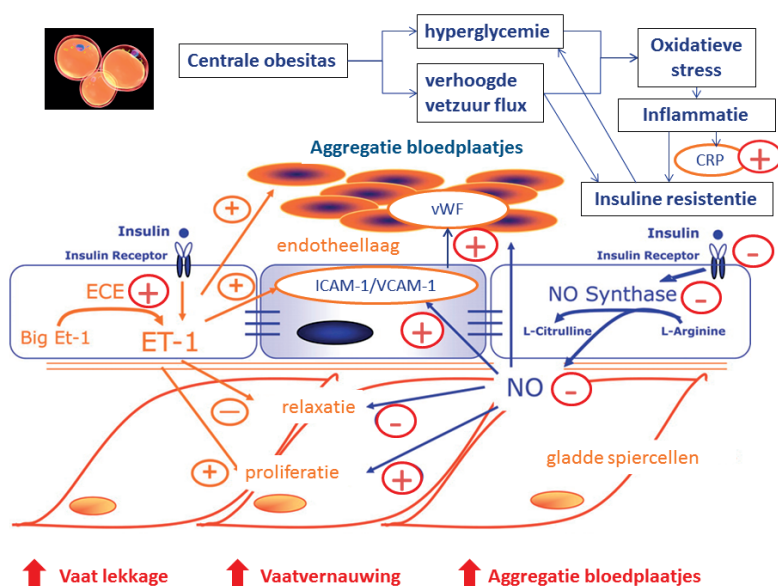
ACE inhibitor:	angiotensin-converting enzyme inhibitor = medicijn dat het enzym remt dat de omzetting van angiotensine 1 in angiotensine 2 faciliteert
BMI:	body mass index
ELISA:	enzyme-linked immunosorbent assay = enzym-gekoppelde analyse met behulp van antistoffen tegen substantie waarvan de concentratie in beeld wordt gebracht
HbA1c:	glycated hemoglobine = 'versuikerd' hemoglobine
HDL:	high-density lipoprotein = lipoproteïne met hoge dichtheid
hs-CRP:	high-sensitivity C-reactive protein = CRP met hoge gevoeligheid, wat wil zeggen dat de concentratie van hs-CRP al bij laaggradige inflammatie stijgt
LDL:	low-density lipoprotein = lipoproteïne met lage dichtheid
sICAM-1:	soluble intercellular adhesion molecule 1 = oplosbaar intracellulair adhesiemolecuul type 1
sVCAM-1:	soluble vascular cell adhesion molecule 1 = oplosbaar vasculair adhesiemolecuul type 1
T2D:	diabetes mellitus type 2
VLCD:	very low-calorie diet = dieet met 400-800 kcal per dag
vWF:	von Willebrand factor

Samenvatting

Achtergrond en doelstellingen: Patiënten met type 2 diabetes (T2D) hebben een hogere kans om te overlijden aan hart- en vaatziekten als zij ook overgewicht of obesitas hebben. In een recente studie leidde gewichtsverlies door het volgen van een dieet echter niet tot een verminderd risico op hart- en vaatziekten bij patiënten met T2D. Dit komt misschien door de intensieve, parallelle medische behandeling die de deelnemers kregen, of doordat hun vaatschade al irreversibel was geworden doordat ze al lang T2D hadden. Wij onderzochten het effect van gewichtsverlies met een dieet op risicofactoren voor hart- en vaatziekten bij patiënten met T2D en overgewicht of obesitas, en of dit effect werd beïnvloed door het gebruik van statines, ACE-remmers, metformine en de tijd sinds de T2D-diagnose.

Methoden: Patiënten met T2D en een BMI > 27 werden gedurende 4 maanden onderworpen aan een energiebeperkt dieet. Voor en na de dieetinterventie, werden de plasmaniveaus van sICAM-1, sVCAM-1, CRP, vWF en van conventionele biomarkers van hart- en vaatziekten gemeten. Associaties tussen veranderingen in het niveau van de biomarkers, medicijngebruik en T2D geschiedenis, werden getest met behulp van lineaire regressieanalyse, waarbij gecorrigeerd werd voor leeftijd, geslacht en verandering van insulinedosering.

Resultaten: Bij de 131 geïncludeerde patiënten resulteerde het dieet in een gewichtsverlies van 10,2 kg (95% CI: 9,2, 11,3; $p < 0,001$), en een daling van HbA1c (-7,0 mmol / mol (95% CI: -8,5, -5,0); $p < 0,001$), LDL-cholesterol (-0,2 mmol / L (95% CI: -0,4, -0,1); $p < 0,001$), sICAM-1 (-22,4 ng / ml (95% CI: -37,1, -8,7); $p = 0,001$), vWF (-3,9 IU / ml (95% CI: -6,4, -1,4); $p = 0,003$) en CRP (-0,6 mg / L (95% CI: -1,2, -0,2); $p =$



Adapted from: Potenza et al. American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism 2009

Noot redactie: Figuur 1 maakt geen onderdeel uit van de originele publicatie. De figuur is toegevoegd door auteur Kirsten Berk om de relatie tussen obesitas, insuline resistentie en endotheel dysfunctie te visualiseren.

Figuur 1: Relatie tussen obesitas, insuline resistentie en endotheel dysfunctie.

Deze figuur is gebaseerd op het artikel van Potenza et al. (AJP- Endocrinology & metabolism, 2009).

Het vet tussen de buikorganen wordt makkelijk gemobiliseerd en komt dan als vrije vetzuren in het bloed. Een verhoogde flux van vetzuren naar lever en spieren bevordert insulineresistentie, wat weer leidt tot verhoogde bloedglucosespiegels (=hyperglycemie). Verhoogd aanbod van bloedglucose en vrije vetzuren stimuleert de productie van zuurstofradicalen die celbeschadiging veroorzaken (oxidatieve stress). Dit voor obesitas typerende proces wordt 'chronische laaggradige inflammatie' genoemd en wordt gekenmerkt door stijging van het CRP (C-reactive protein) gehalte in bloed. Het proces houdt zichzelf in stand doordat inflammatie ook insulineresistentie bevordert. Insulineresistentie in de vaatwand leidt tot verminderde aanmaak van stikstofoxide (NO) en verhoogde afgifte van endotheline-1 (ET-1). Het gevolg is dat het endotheel meer van de adhesiemoleculen, zoals ICAM-1 en VCAM-1 aanmaakt en meer vWF afgeeft. Het resultaat is verhoogde doorgankelijkheid van de vaatwand, verhoogde bloeddruk en verhoogde kans op trombose, en daarmee tot hart- en vaatziekten. Mogelijk kan dit proces gekeerd worden door middel van gewichtsverlies.

o,007), maar het dieet had geen invloed op het sVCAM-1 niveau (1,6 ng/ml (95% CI: -41,5, 48,6); $p = 0,949$). Genoemde effecten waren niet geassocieerd met medicijngebruik of de tijd sinds de T2D-diagnose, met uitzondering van een associatie tussen statinegebruik en verandering in het sVCAM-1 niveau, ten gunste van statinegebruik. **Conclusie:** Gewichtsverlies door het volgen van een dieet verlaagde de niveaus van biomarkers van endotheel dysfunctie en inflammatie in patiënten met overgewicht of obesitas en T2D, onafhankelijk van het medicatiegebruik en hoe lang al sprake was van T2D. Kortom, zelfs patiënten met een lange T2D-geschiedenis, die intensief worden behandeld met medicatie, kunnen profiteren van gewichtsafname door een dieet. **Trefwoorden:** type 2 diabetes, obesitas, dieet, endotheel dysfunctie, inflammatie

1. Introductie

Hart- en vaatziekten zijn een gevreesde complicatie van Type 2 diabetes (T2D), aangezien het een belangrijke doodsoorzaak is bij personen met T2D (Barr et al. 2007). Overgewicht en obesitas verhogen de kans om te overlijden als gevolg van hart- en vaatziekten met T2D (Katzmarzyk et al. 2013). In het vroege, asymptomatische stadium, heeft de - voor T2D typerende - insulineresistentie al een nadelig effect op de endotheelfunctie (Tousoulis et al. 2013). Deze endotheeldysfunctie wordt gekenmerkt door verminderde vasodilatatie, verhoogde vasoconstrictie, onvoldoende of overmatige angiogenese, verminderde barrièrefunctie, verhoogde stollingsactiviteit en inflammatie, welke allemaal zijn geassocieerd met hart- en vaatziekten (Eringa et al. 2013). Het oplosbare vasculaire adhesiemolecuul 1 (sVCAM-1) en intercellulaire adhesiemolecuul 1 (sICAM-1), alsmede de 'von Willebrand factor (vWF)' zijn alle biomarkers van de endotheelfunctie. Deze markers zijn verhoogd bij patiënten met T2D en gekoppeld aan vasculaire complicaties en overlijden bij T2D (Steiner et al. 1994, Stehouwer et al. 2002, Meigs et al. 2004, Frankel et al. 2008, Kanai et al. 2008, Tousoulis et al. 2013). De systemische inflammatiemarker C-reactief proteïne (CRP) wordt ook in

verband gebracht met endotheeldysfunctie, atherosclerose en visceeraal vetweefsel (Schillinger et al. 2003, Schulze et al. 2004) en daarom in de klinische praktijk gebruikt om het risico op hart- en vaatziekten (Pearson et al. 2003) in te kunnen schatten. In figuur 1 wordt getoond hoe overgewicht via de werking van insuline en inflammatie de endotheelfunctie beïnvloedt (Potenza et al. 2009).

Bewust matig gewichtsverlies bij overgewicht met of zonder T2D, verbetert de insuline-gevoeligheid, bloeddruk, het lipidenprofiel en de endotheelfunctie en vermindert inflammatie (Hamdy et al. 2003, Esposito et al. 2004, Raitakari et al. 2004, Gregg et al. 2012, Bigornia et al. 2013, Wing et al. 2013, Look Ahead Research Group 2014). Toch leidde gewichtsverlies als gevolg van een leefstijlinterventie in de Look AHEAD-studie niet tot afname van het risico op hart- en vaatziekten bij patiënten met T2D (Wing et al. 2013). Het gebruik van gerenommeerde hartmedicatie, zoals statines en angiotensine-convertering enzym (ACE)-remmers, maar ook van metformine, welke vaak worden voorgeschreven bij T2D, kan het contrast tussen de groepen in deze studie hebben verkleind. Ook kunnen pathologische veranderingen in de vaatwand onomkeerbaar zijn geworden na een lange geschiedenis van T2D.

In deze studie is onderzocht wat het effect is van gewichtsverlies met een dieet op biomarkers van endotheeldysfunctie en inflammatie bij patiënten met T2D en overgewicht of obesitas. Vervolgens is gezocht naar een associatie tussen veranderingen in de niveaus van biomarkers en het gebruik van medicatie en de tijd sinds het stellen van de diagnose T2D.

2. Patiënten en methoden

De huidige studie was een pragmatisch 'voor-na' onderzoek in de inloophase van de 'Prevention Of Weight Regain (POWER)-studie, waarvan het protocol eerder is gepubliceerd (Berk et al. 2012). Deze studie werd goedgekeurd door de Medisch Ethische Commissie van het Erasmus Medisch Centrum in Rotterdam (referentienummer

MEC-2009-143/ NL26508.078.09) en was in overeenstemming met de 'Verklaring van Helsinki'. Alle deelnemers gaven hun geschreven 'informed consent' voor deelname aan het onderzoek.

2.1 Studiepopulatie

Patiënten met T2D en overgewicht of obesitas ($BMI > 27 \text{ kg/m}^2$) in de leeftijd van 18-75 jaar, werden geworven op de polikliniek diabetes van het Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam in de periode van 2010-2013. Exclusiecriteria waren zwangerschap, borstvoeding, ernstige psychiatrische problemen, significante hartritme stoornissen, instabiele angina pectoris, gedecompenseerd hartfalen, ander orgaanfalen, onbehandelde hypothyreoïdie en eindstadium nierziekte. Patiënten die in de voorafgaande drie maanden een hartinfarct, cerebrovasculair accident of grote chirurgische ingrepen hadden ondergaan, werden ook uitgesloten van deelname aan de studie. Voor alle deelnemers aan de huidige studie gold, dat de gebruikte antidiabetica en hartmedicatie onveranderd was gedurende ten minste drie maanden voorafgaand aan de interventie.

2.2 Dieetinterventie en dataverzameling

De deelnemers begonnen met een zeer laagcalorisch dieet (VLCD) van 750 kcal per dag gedurende 8 weken. Het VLCD bestond uit twee commercieel beschikbare maaltijdvervangers (Glucerna SR®) per dag, 75 gram mager vlees, 150 ml magere melk en een onbeperkte hoeveelheid koolhydraatarme groenten. Vervolgens werd het dieet uitgebreid naar 1100-1300 kcal/dag gedurende 12 weken. Na 20 weken gebruikten de deelnemers een dieet van een 1300 kcal/dag dieet op basis van de nationale gezondheidsaanbevelingen. Tijdens het dieetprogramma werden patiënten aangemoedigd 60 minuten per dag fysiek te trainen. Om het risico van hypoglykemie te verkleinen, werden de doses van sulfonylureumderivaten en insuline verlaagd voor aanvang van de voedingskundige interventie, na een nulmeting. Ook werden insulinedoseringen aangepast op basis van de glucoseniveaus. Omdat insuline tijdens de interventie werd aangepast, hebben we niet de interactie tussen het gebruik van insuline en het dieeteffect kunnen analyseren. Wel zijn in alle analyses de dieeteffecten gecorrigeerd voor de insulineveranderingen tijdens de interventie. De doseringen van metformine, statines en ACE-remmers werden tijdens de interventie gehandhaafd.

Plasmamonsters werden verkregen na een nacht vasten, en monsters werden opgeslagen bij $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ tot verdere analyse. Van de 206 patiënten, die de voedingsinterventie volgden, werden van 131 patiënten bloedmonsters verkregen van zowel vóór als direct na de voedingsinterventie. Om de deelnemers te laten dienen als hun eigen controle, werden alleen deze 131 patiënten meegenomen in de huidige studie. De andere 75 patiënten waren niet significant verschillend van de deelnemende patiënten bij aanvang van de studie wat betreft leeftijd, geslacht, gewicht, HbA_{1c} of diabetescomplicaties (ongepubliceerde data). We registreerden van alle deelnemers voor en na dieetinterventie: demografische variabelen, duur van diabetes, rookstatus, medicijngebruik, gemeten gewicht (kg), taille omtrek (cm) en de bloeddruk. Het gecombineerde gebruik van statines, ACE-remmers en metformine werd gedefinieerd als 'maximale behandeling'. Hemoglobineglycaat (HbA_{1c} (mmol/mol)), nuchtere

glucose (mmol/l) en plasmalipiden (mmol/l) werden gemeten met behulp van routine laboratoriumtechnieken. Lichamelijke activiteit werd gemeten met behulp van een korte vragenlijst: Short Questionnaire to Assess Health Enhancing Physical Activity (squash) (22). De studie werd gevolgd en gedocumenteerd met behulp van het proces beheersysteem OpenClinica (Waltham, MA).

2.3 Meting van biomarkers van endotheeldysfunctie en inflammatie

Biomarkerniveaus werden gemeten in plasma met behulp van 'enzymgekoppelde immunosorbent assays (ELISA)'. De markers sICAM-1, sVCAM-1 en hs-CRP werden gemeten met behulp het DuoSet ELISA Development Systems (R & D Systems, Minneapolis, MN) en vWF werd gemeten met behulp van Von Willebrand Factor bioassay ELISA (USBiological Life Sciences, Salem, MA). Alle bepalingen werden uitgevoerd volgens de instructies van de fabrikant. Voor elke patiënt werden alle vóór en na de interventie verzamelde monsters geanalyseerd op dezelfde ELISA-plaat.

2.4 Statistische analyse

We berekenden een noodzakelijke steekproefomvang van 120 patiënten met een 'power' van 80% om een gering effect (Cohen's $d = 0.20$) met een alfa van 0,05 en een correlatie van 0,70 tussen de vóór- en nameting vast te kunnen stellen. Normaliteit (wel/niet normaalverdeling) van de gegevens en homogeniteit van de varianties werden getest met de Shapiro-Wilks en Levene's test. Variabelen vóór en na de voedingsinterventie werden uitgedrukt als gemiddelde met standaarddeviatie (SD) of mediaan met interkwartiel range (IQR) en getest op statistische significantie met behulp van een tweezijdige gepaarde samples t-test of Wilcoxon ranking-test plus Hodges-Lehman mediaan verschiltest, afhankelijk van de aan- of afwezigheid van normaliteit van de data. De Wilcoxon ranking test werd verder gebruikt om de verdeling van deelnemers over op CRP gebaseerde risicogroepen voor hart en vaatziekten, vóór en na de ingreep te vergelijken. Veranderingen in gewicht en biomarkers werden uitgedrukt als gemiddelde of mediaan met betrouwbaarheidsinterval (confidence interval (CI)). Lineaire regressieanalyse werd uitgevoerd om de associatie van veranderingen in de biomarkers met medicijngebruik en T2D geschiedenis, gecorrigeerd voor leeftijd, geslacht en aanpassing van insulinedosis, te testen. Om vóór en na de dieetinterventie de interactie tussen de biomarkers en medicijngebruik te analyseren, werd de 'MANOVA for repeated measurements' gebruikt. De variabelen werden eerst genormaliseerd met behulp van de Blom-transformatie, alvorens ze werden geanalyseerd met behulp van regressieanalyse en de 'MANOVA for repeated measurements' test. Statistische significantie werd gedefinieerd als een p-waarde $< 0,05$. Alle statistische analyses werden uitgevoerd met behulp van IBM SPSS Statistics versie 21.

3 Resultaten

3.1 Karakteristieken van de onderzoekspopulatie bij de start van de studie

Tabel 1 bevat de kenmerken van de onderzoekspopulatie. Vóór de interventie was de BMI $36,8 \pm 5,6 \text{ kg/m}^2$. De mediane periode sinds

de diagnose T2D was gesteld, was 10,0 jaar en varieerde van 0,4-39,0 jaar. Van de 131 deelnemers werd 62,6% behandeld met insuline, 75,6% met metformine en 20,6% met een sulfonylureumderivaat, terwijl slechts twee deelnemers werden behandeld met incretines. Er werden geen thiazolidinedionen gebruikt. Verder gebruikte 72,5% van de deelnemers statines, 58,8% ACE-remmers, 35,9% bètablokkers, 21,4% calciumantagonisten, 48,1% diuretica en 3,1% alfa-2-antagonisten. Microvasculaire en macrovasculaire complicaties waren aanwezig bij respectievelijk 60,3% en 27,6% van de deelnemers. Ondanks medicatie was het mediane HbA1c niveau 61,0 mmol/mol en het mediane LDL-cholesterol niveau 2,5 mmol/L bij aanvang van de studie. Negentien deelnemers (15,4%) waren actuele rokers; tijdens de interventieperiode zijn 3 deelnemers gestart en 2 gestopt met roken.

De statinegebruikers hadden bij aanvang van de studie ten opzichte van de niet-statinegebruikers, een lager LDL-cholesterol (2,4 mmol/L (IQR: 2,0, 3,0) vs. 2,9 mmol/L (IQR: 2,3, 3,6), $p = 0,007$), lagere hs-CRP (3,3 g/ml (IQR: 1,3, 10,0) vs. 6,9 g/ml (IQR: 1,8, 18,9), $p = 0,035$) en een lager vWF niveau (30,6 IU/ml (IQR: 23,1, 41,3) vs. 36,2 IU/ml (IQR: 27,5, 57,7), $p = 0,028$). Vergeleken met deelnemers die geen gebruik maakten van ACE-remmers, waren gebruikers van ACE-remmers ouder (56,0 (IQR: 50,0, 63,0) versus 53,0 (IQR: 42,5, 59,0) jaren, $p = 0,018$) en hadden ze een hogere systolische bloeddruk (141,0 mmHg (IQR: 130,0, 162,5) vs. 132,0 mmHg (IQR: 122,5, 148,5), $p = 0,009$). Deelnemers die met metformine werden behandeld, verschilden bij aanvang niet van degenen die niet werden behandeld met metformine. Deelnemers op 'maximale behandeling', die een combinatie kregen van statines, ACE-remmers en metformine ($n = 48$) hadden een lagere CRP-niveau dan de andere deelnemers (2,7 g/ml (IQR: 1,1, 7,1) vs. 4,8 g/ml (IQR: 2,3, 16,6), $p = 0,015$).

3.2 Effect van de dieetinterventie

Het effect van de dieetinterventie op metabole en endotheelmarkers is weergegeven in tabel 1. Tijdens de 4 maanden durende voedingsinterventie verloren deelnemers 10,2 kg (95% CI: 9,2, 11,3; $p < 0,001$) gewicht, wat neerkomt op $9,8 \pm 5,2\%$ van hun aanvankelijke lichaamsgewicht. De dieetinterventie resulteerde in een significante mediane daling in plasmaspiegels van HbA1c (-7,0 mmol/mol (95% CI: -8,5, -5,0); $p < 0,001$), LDL-cholesterol (-0,2 mmol/L (95% CI: -0,4, -0,1); $p < 0,001$) en van andere plasmalipiden ($p < 0,01$), terwijl de systolische bloeddruk niet veranderde ($p = 0,405$). Ook werd een significante mediane daling waargenomen in de plasmaspiegels van sICAM-1 (-22,4 ng/ml (95% CI: -37,1, -8,7); $p = 0,001$), vWF (-3,9 IU/ml (95% CI: -6,4, -1,4); $p = 0,003$) en van hs-CRP (-0,6 mg/L (95% CI: -1,2, -0,2); $p = 0,007$) tijdens het gewichtsverlies, hoewel het sVCAM-1 niveau niet veranderde (1,6 ng/ml (95% CI: -41,5, 48,6); $p = 0,949$). De verandering in biomarkers bleek niet gecorreleerd met veranderingen in fysieke activiteit en ook niet met de prevalentie van microvasculaire en macrovasculaire pathologie (gegevens niet getoond). Alleen voor wat betreft CRP is een cut-off gedefinieerd waarboven het risico op hart- en vaatziekten toeneemt, namelijk ffl 3 mg/L, terwijl een CRP niveau < 1 mg/L representatief is voor een laag risico op hart- en vaatziekten (12). De verdeling van patiënten over de drie categorieën (ffl 3, < 3 , ffl 1 en < 1 mg/L) verschoof significant richting 'laag risico' na de dieetinterventie ($p < 0,001$): vóór dieetinterventie

Tabel 1: Karakteristieken van de studiepopulatie ($n=131$) vóór en na dieetinterventie

Variabelen*	Vóór	Na	p-waarde**
Leeftijd (jaren, range)	54 (26-74)		
Geslacht (% female)	57,3		
Aantal jaren sinds diagnose T2D	10,0 (3,0, 15,0)		
Insulinegebruikers (%)	62,6	57,6	
Insulinedosering (IU/day)	108,0 (68,0, 136,0)	31,0 (16,8, 52,5)	<0,001
Metforminegebruikers (%)	75,6	onveranderd	
Metforminedosering (mg/day)	1700 (1000, 2550)	onveranderd	
Statinegebruikers (%)	72,5	onveranderd	
ACE-remmergebruikers (%)	58,8	onveranderd	
Microvasculaire ziekte (%)	60,3	onveranderd	
Macrovasculaire ziekte (%)	27,6	onveranderd	
Fysieke activiteit (SQUASH score)	3360 (1440, 6270)	3960 (1800, 7680)	0,395
Gewicht (kg)	105,0 \pm 19,1	94,5 \pm 17,3	<0,001
BMI (kg/m ²)	36,8 \pm 5,6	33,1 \pm 5,2	<0,001
Middelomtrek (cm)	119,8 \pm 12,9	110,8 \pm 11,9	<0,001
Systolische bloeddruk (mmHg)	138,0 (127,8, 157,3)	139,0 (128,0, 150,0)	0,405
HbA1c (mmol/mol)	61,0 (52,0, 71,0)	53,0 (43,0, 66,0)	<0,001
Nuchter glucose (mmol/l)	8,8 (6,9, 10,8)	7,3 (6,1, 9,3)	<0,001
Totaal cholesterol (mmol/l)	4,4 (3,7, 5,1)	4,1 (3,5, 4,8)	<0,001
LDL-cholesterol (mmol/l)	2,5 (2,1, 3,1)	2,4 (1,8, 2,9)	<0,001
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,1 (1,0, 1,3)	1,2 (1,0, 1,4)	0,002
Triglyceriden (mmol/l)	1,8 (1,2, 2,6)	1,4 (1,0, 2,0)	<0,001
sICAM-1 (ng/ml)	175,0 (133,1, 257,5)	158,2 (113,4, 222,5)	0,001
sVCAM-1 (ng/ml)	451,3 (324,3, 636,5)	432,5 (292,0, 682,1)	0,949
hs-CRP (mg/l)	3,9 (1,6, 13,0)	3,4 (1,1, 8,5)	0,007
vWF (IU/ml)	31,3 (24,1, 43,6)	30,2 (20,5, 40,7)	0,003

* Gemiddelde \pm SD or median (interquartile range), ** Paired samples T-test or Wilcoxon ranking test

had 58,3% van de studiepopulatie een CRP boven de 3 mg/ml, na de voedingskundige interventie 50,8 % ($p = 0,033$). De groep patiënten met een 'laag-risico-CRP-niveau' steeg van 12,1% naar 23,5% met de dieetinterventie ($p < 0,001$).

3.3 Relatie tussen verandering in biomarkers en de lengte van de periode sinds de T2D-diagnose

Om te bepalen of er een verband was tussen de lengte van de periode dat de patiënt bekend was met T2D en de veranderingen in biomarkers als gevolg van gewichtsverlies met een dieet, werd een univariate lineaire regressieanalyse, gecorrigeerd voor leeftijd, geslacht en veranderingen in insulinedosering, uitgevoerd. Bij aanvang van de studie was het sVCAM-1-niveau positief geassocieerd met de duur van het bestaan van T2D ($\beta = 0,245$, $p = 0,005$), terwijl de niveaus van sICAM-1 ($\beta = 0,104$, $p = 0,237$), vWF ($\beta = 0,065$, $p = 0,460$) en CRP-niveaus ($\beta = -0,021$, $p = 0,811$) niet geassocieerd waren met de T2D-geschiedenis. De veranderingen in de niveaus van sICAM-1 ($\beta = -0,044$, $p = 0,621$), sVCAM-1 ($\beta = 0,013$, $p = 0,886$), vWF ($\beta = -0,005$, $p = 0,952$) en hs-CRP ($\beta = -0,012$, $p = 0,887$) na dieetinterventie waren niet gerelateerd aan de T2D-geschiedenis.

3.4 Relatie tussen verandering in biomarkers en cardio-protectieve medicatie

Ten eerste hebben we de associatie van medicatie met het veranderingen in de vaatwand-gerelateerde biomarkers onderzocht met

behulp van lineaire regressieanalyse, gecorrigeerd voor leeftijd, geslacht en verandering in insulinedosering. Veranderingen in de biomarkers bleken niet geassocieerd met het gebruik van statines, ACE-remmers of metformine, op een negatieve associatie tussen statinegebruik en verandering in sVCAM-1 na ($\beta = -0,23$, $p = 0,020$). We hebben ook een formele interactiestudie uitgevoerd. Tabel 2 toont het verschil in het effect van de dieetinterventie op de gemeten vasculaire biomarkers, met of zonder statines, ACE-remmers of metformine. Er werden geen significante interacties tussen de vasculaire biomarkerniveaus voor en na het dieet en het gebruik van statines, ACE-remmers en metformine gevonden. Er werd wel een borderline significante interactie tussen sVCAM-1 voor en na het dieet en maximale medische behandeling (statine plus ACE-remmer plus metformine) gevonden. Deelnemers op maximale medische behandeling vertoonden een daling van sVCAM-1, terwijl de andere deelnemers een toename van sVCAM-1 (tussen de groepen verschil $p = 0,047$) lieten zien. Resultaten waren onveranderd na correctie voor leeftijd, geslacht, gewichtsverandering en insuline gebruik.

4 Discussie

We vonden dat gewichtsverlies als gevolg van een dieet niet alleen de glykemische toestand en lipiden verbeterde, maar ook een gunstig effect had op biomarkers van endotheeldysfunctie en inflammatie in patiënten met T2D en overgewicht of obesitas. Het maakte hierbij niet uit hoe lang de patiënt al T2D had en of hij statines, ACE-remmers of metformine gebruikte.

Het gunstige effect van gewichtsverlies door het volgen van een dieet op klassieke risicofactoren voor hart- en vaatziekten, zoals hypercholesterolemie en hyperglycemie bij T2D-patiënten met obesitas is bekend (Anderson et al. 2003, Wing et al. 2013) en wordt bevestigd door de resultaten van deze studie. De resultaten wat betreft de biomarkers van endotheelfunctie en inflammatie zijn in overeenstemming met eerdere studies naar het effect van gewichtsverlies door een dieet bij obese proefpersonen met en zonder T2D (Hamdy et al. 2003, Raitakari et al. 2004, Clifton et al. 2005, Belalcazar et al. 2013, Buscemi et al. 2013, Thompson et al. 2014). De biomarkers voor endotheelfunctie in deze studie spelen een belangrijke rol bij de adhesie van leukocyten aan het endotheel, stollingsprocessen en bij vasculaire inflammatie (Tousoulis et al. 2012, Tousoulis et al. 2012) en zijn sterk geassocieerd met het ontstaan van hart- en vaatziekten bij personen met T2D (Stehouwer et al. 2002, Schillinger et al. 2003, Meigs et al. 2004, Frankel et al. 2008, Kanai et al. 2008, Katzmarzyk et al. 2013). Een verlaging van sICAM-1, vWF en hs-CRP kan daarom het risico op vasculaire complicaties bij T2D verkleinen. Een energiebeperkt dieet lijkt hierbij effectief (RED). Ter illustratie, het aantal patiënten bij wie het hs-CRP verschoof van een medium/hog naar een laag risico op hart- en vaatziekten, leidde tot een verdubbeling van het aantal patiënten in de laagrisicogroep. Echter, de veranderingen in biomarkerniveaus door het gewichtsverlies met een dieet, zijn relatief klein en vervolgstudies zijn nodig om de klinische relevantie te bepalen.

We vonden dat statinegebruik en gewichtsverlies met een dieet toegevoegde waarde hebben bij het verlagen van CRP in T2D-patiënten.

Dit is in lijn met de resultaten van de 'Look AHEAD' studie (Belalcazar et al. 2013). Hoewel de voedingskundige interventie in onze studie van kortere duur was, werd een gewichtsverlies van dezelfde omvang waargenomen als in de intensieve leefstijlinterventie arm van de Look AHEAD-studie na 1 jaar (Wing et al. 2013). In tegenstelling tot de Look AHEAD-studie, werden in onze studie statine-behandelde deelnemers direct vergeleken met de niet-statine-behandelde deelnemers. Aanpassingen in de statinedosering tijdens de voedingskundige interventieperiode waren een beperking van de Look AHEAD-studie. In onze studie werden medicatiedoseringen tijdens de interventie gehandhaafd. We vonden geen interactie van statinegebruik met verbeteringen in hs-CRP, sICAM-1 en vWF-niveaus. De enige interactie tussen dieet en medicatie werd waargenomen bij patiënten die de combinatie van een statine, ACE-remmer en metformine kregen versus de andere patiënten die een verbetering van sVCAM-1-niveaus lieten zien met het dieet als de maximale behandeling. Het gebrek aan effect op cardiovasculaire eindpunten in de Look AHEAD-trial (Wing et al. 2013) is dus waarschijnlijk niet het gevolg van de intensivering van de medische behandeling, maar mogelijk wel van de geleidelijke gewichtstoename tijdens de follow-up periode. Gesteld kan worden dat leefstijlinterventies gericht op lange termijn-gewichtsvermindering nog steeds een toegevoegde waarde hebben bovenop de medicatie bij T2D patiënten met overgewicht en obesitas.

De brede range in de T2D-geschiedenis in onze studiegroep (0,4-39,0 jaar sinds T2D werd gediagnosticeerd) gaf ons de gelegenheid om de invloed van de duur van het bestaan van T2D op het effect van het gewichtsverlies te bestuderen. Een hypothese is dat het vaatstelsel niet meer kan profiteren van gewichtsverlies doordat er - als gevolg van het langdurig bestaan van T2D (RED) - al vergevorderde, onomkeerbare schade is aangericht aan de vaatwand (Johansen 2015). Echter, we vonden dat het effect van gewichtsverlies op surrogaat-eindpunten voor de conditie van de vaatwand onafhankelijk was van de lengte van de periode sinds de T2D-diagnose. Dit suggereert dat patiënten met een lange geschiedenis van T2D nog steeds kunnen profiteren van een interventie gericht op gewichtsverlies, op dezelfde manier als nieuw-gediagnosticeerde patiënten. Onze resultaten zijn in lijn met de resultaten van patiënten met een relatief korte geschiedenis van T2D. In de ACTID-trial (Thompson et al. 2014) daalden de gehalten van sICAM-1, CRP en IL-6 met een voedingsinterventie. In een andere, kleine proef verbeterde de armslagaderdoorbloeding, hoewel de microvasculaire doorbloeding en het vWF-niveau niet significant veranderden in deze laatste studie (Hamdy et al. 2003).

4.1 Sterke en zwakke punten van de studie

De huidige studie is een pragmatische 'voor-na'-studie in de 'run-in fase' van een gerandomiseerde trial. Bijgevolg kunnen we niet volledig uitsluiten dat andere factoren dan de dieetinterventie hebben bijgedragen aan de beschreven effecten. Lichamelijke activiteit veranderde niet significant en was niet gecorreleerd met de verandering in biomarkers (data niet getoond), medicatie werd goed vervolgd en aangenomen werd dat geen grote veranderingen in de medische toestand optraden gedurende de interventie van 4 maanden. Echter, de compliance met medicatie of dieetbehandeling kon niet worden

gecontroleerd. Toekomstige gerandomiseerde gecontroleerde replicatiestudies zijn nodig om onze bevindingen te bevestigen. Men zou kunnen stellen dat de medicatiesubgroepen klein waren en dat de kans op een type 2-fout aanzienlijk was voor wat betreft de interactie-analyse. Echter, het resultaat van de robuustere lineaire regressieanalyse was in overeenstemming met de interactie-analyse. Een andere beperking was het gebruik van veranderingsscores in de regressieanalyses die gevoelig zijn voor regressie naar het gemiddelde. Ten slotte was onze studie beperkt tot surrogaatmarkers voor de rol van de vaatwand bij inflammatie en trombose. We hebben geen gegevens beschikbaar over vasomotorische en barrièrefunctie van de vaatwand en over de angiogenese in de vaatwand. Het effect van gewichtsverlies met een dieet op endotheelfunctie op de lange termijn en op cardiovasculaire eindpunten in deze patiëntenpopulatie zal in de toekomst onderzocht moeten worden. Sterke punten van de huidige studie waren het prospectieve design, de gestructureerde informatie over medicijngebruik en het strikte medicatieprotocol tijdens de interventie. Bovendien waren we in staat om een cohort samen te stellen met een brede range wat betreft de T2D-geschiedenis, waardoor de resultaten representatief zijn voor de T2D-populatie met overgewicht en obesitas.

5. Erkenning van bijdragen van anderen aan dit onderzoek

Wij danken onze patiënten, en Conny van Holten-Neelen voor haar bijdrage aan de metingen en de analyse van de biomarkers.

6. Verklaring van het auteurschap

KAB heeft meegeschreven aan de opzet van het onderzoek, heeft deelnemers geworven, leidde de interventie, nam deel aan de statistische analyses en schreef de eerste versie van het manuscript. TPO schreef mee aan de opzet van het onderzoek, was betrokken bij de meting van de biomarkers en bij de uitvoering van de statistische analyse. RT was betrokken bij de statistische analyse van de gegevens en bij de herziening van het manuscript. WAD, MTM, AJMV, AJMR en EJGS werkten mee aan het design en aan de coördinatie van het onderzoek, en leverden een kritische bijdrage aan de herziening van het manuscript. EJGS hield toezicht op het onderzoek, had volledige toegang tot de gegevens en is eindverantwoordelijk voor dit werk, inclusief de integriteit en de nauwkeurigheid van de gegevens en de analyses. Alle auteurs hebben het definitieve manuscript gelezen en goedgekeurd.

7. Disclosure

De auteurs hebben geen conflicterende belangen.

8. Sponsoring

Deze studie is intern gefinancierd door het Erasmus Medisch Centrum in het financieringsprogramma: 'Zorgonderzoek Erasmus MC', ID 2008-8303.

Vertaald door Gerdien Ligthart-Melis en Mariël Klos met hulp van de eerste auteur Kirsten Berk.

In verband met de ruimte in het blad, kunt u de volledige referenties op de website terugvinden.

Tabel 2: Effect op vasculaire biomarkers van dieetinterventie mét versus zonder bepaalde medicatie

Biomarker:	Vóór dieet:	Na dieet:	Vóór dieet:	Na dieet:	P-tijd*	P-interactie**
	Geen statines (n=36)		Statines (n=95)			
sICAM-1 (ng/mL)	182.9 (127.7, 281.0)	150.2 (110.6, 258.0)	174.7 (134.0, 249.1)	158.2 (116.0, 216.8)	.002	.711
sVCAM-1 (ng/mL)	409.0 (325.0, 588.6)	474.9 (339.2, 724.5)	459.7 (323.4, 686.0)	424.3 (276.7, 635.9)	.667	.079
hs-CRP (g/mL)	6.9 (1.8, 18.9)	3.8 (1.4, 11.7)	3.3 (1.3, 10.0)	2.6 (0.9, 7.5)	.001	.232
VWF (IU/mL)	36.2 (27.5, 57.7)	31.8 (21.9, 49.9)	30.6 (23.1, 41.3)	29.3 (18.6, 38.1)	.012	.657
	Geen ACE-remmers (n=54)		ACE-remmers (n=77)			
sICAM-1 (ng/mL)	181.1 (134.9, 258.2)	193.6 (127.0, 251.0)	171.1 (128.3, 251.6)	145.4 (107.7, 200.5)	.003	.053
sVCAM-1 (ng/mL)	420.6 (303.6, 579.2)	438.8 (294.8, 736.4)	476.1 (333.7, 663.6)	432.5 (274.2, 675.7)	.854	.220
hs-CRP (g/mL)	3.8 (1.8, 13.1)	3.5 (1.5, 8.6)	4.4 (1.3, 12.6)	2.7 (0.8, 8.6)	.003	.253
VWF (IU/mL)	31.9 (27.1, 39.9)	31.4 (25.0, 41.2)	31.3 (22.6, 48.4)	28.4 (17.9, 39.2)	.018	.247
	Geen metformine (n=32)		Metformine (n=99)			
sICAM-1 (ng/mL)	217.8 (138.0, 298.6)	204.8 (130.0, 285.6)	171.1 (127.8, 231.1)	146.8 (109.1, 202.6)	.020	.248
sVCAM-1 (ng/mL)	484.5 (306.4, 730.0)	441.9 (339.2, 918.8)	429.3 (327.1, 614.4)	424.4 (276.7, 680.4)	.988	.478
hs-CRP (g/mL)	5.4 (2.4, 17.0)	5.3 (1.7, 22.7)	3.6 (1.3, 11.6)	2.6 (0.9, 7.4)	.047	.094
VWF (IU/mL)	33.0 (24.5, 56.5)	32.2 (15.6, 48.1)	31.0 (24.1, 42.7)	29.9 (20.5, 39.8)	.027	.948
	Geen maximale behandeling (n=83)		Maximale behandeling (n=48)			
sICAM-1 (ng/mL)	186.9 (133.8, 285.7)	189.8 (125.5, 262.2)	161.9 (128.6, 207.9)	142.6 (98.0, 168.1)	.001	.093
sVCAM-1 (ng/mL)	432.3 (317.5, 610.7)	439.1 (335.2, 736.2)	461.0 (332.6, 669.1)	420.6 (248.4, 568.9)	.353	.047
hs-CRP (g/mL)	4.8 (2.3, 16.6)	4.0 (1.6, 11.7)	2.7 (1.1, 7.1)	2.0 (0.7, 7.0)	.002	.887
VWF (IU/mL)	33.7 (26.2, 43.6)	31.3 (22.4, 42.9)	28.1 (21.5, 45.9)	28.0 (17.8, 38.1)	.007	.515