

University of Groningen

## Metabolic and mitogenic functions of fibroblast growth factor 1

Struik, Dicky

DOI:  
[10.33612/diss.133879075](https://doi.org/10.33612/diss.133879075)

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2020

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*  
Struik, D. (2020). *Metabolic and mitogenic functions of fibroblast growth factor 1*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.133879075>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

# Summary

---

Type 2 diabetes (T2D) and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) are worldwide health problems and increase the risk of organ damage and mortality. Available treatment options for these obesity-related diseases include lifestyle intervention, pharmacological treatment, and bariatric surgery. Several studies have shown that these treatment options are not effective in all patients, signifying the need to develop new therapies that can improve metabolic health. According to the James-Lind Alliance disease priority setting partnership, the need to develop improved drugs for T2D and NAFLD has been identified as a top research priority among patients and health care professionals dealing with these diseases. The view that there is an unmet therapeutic need for these patients is also recognized by the major drug regulatory agencies including the European Medicines Agency (EMA) and the U.S. Food and Drug Administration (FDA), as well as non-profit diabetes research associations like the European Association for the Study of Diabetes (EASD) and the American Diabetes Association (ADA).

Two members of the fibroblast growth factor hormone family (i.e., FGF19 and FGF21) have been identified as potential novel drug candidates for the treatment of various obesity-related disorders, including T2D, NAFLD, and dyslipidemia. Therapeutic administrations of recombinant FGF protein potently lowers blood glucose levels, hepatic fat content, and cholesterol levels in preclinical models. Thus far, efforts to translate these findings to the clinic have resulted in the development of several FGF21- and FGF19-based drugs that have already been tested in various clinical trials.

More recently, fibroblast growth factor 1 (FGF1), has been identified as an additional physiological regulator of energy metabolism in mice. Similar to the endocrine FGFs, the pharmacological administration of recombinant FGF1 protein effectively lowers blood glucose levels and liver fat content in obese and diabetic animal models. In preclinical studies, the metabolic activity of FGF1 seems to outperform that of the endocrine FGFs, indicating a clear therapeutic benefit. However, the underlying mechanisms by which FGF1 improves blood glucose levels and liver fat content remain largely unclear. In addition, FGF1 signaling is also linked to the stimulation of cell growth, which is an undesired effect that limits its possible therapeutic application and requires a better understanding of the relationship between the metabolic and cell growth-promoting functions of FGF1. Ultimately, FGF1's metabolic and mitogenic functions are a reflection of its ability to activate various cellular signal transduction pathways. Full understanding of FGF1 activity, therefore, also requires more in-depth insight into the molecular players that regulate FGF1 signaling. Finally, a growing body of preclinical evidence suggests that FGF1, but also FGF19 and FGF21, improve metabolic homeostasis by acting on the hypothalamus. However, whether the required FGF receptor system is also present in the hypothalamus of humans remains unclear.

In this thesis, we describe the results of preclinical studies aimed to provide details on FGF1's mechanism of action and safety. In **chapters 1** and **2**, we presented background information on the pathophysiology and treatment of T2D and NAFLD. We also described how several members of the fibroblast growth factors family, including FGF15/19, and FGF21, have already been developed into new biologicals for the treatment of chronic metabolic diseases. In **chapter 3**, we provide an in-depth discussion on the efficacy and safety of Pegbelfermin, an FGF21 analog that is currently in clinical trials for the treatment of NAFLD. In **chapter 4** and **chapter 5**, we report the results of several preclinical studies aimed to identify the underlying

mechanisms by which recombinant FGF1 improves hepatic steatosis. In **chapter 6** and **chapter 7**, we show the results of preclinical studies aimed to understand how FGF1 regulates glucose metabolism. In **chapter 8**, we addressed the safety of recombinant FGF1 administration by examining to what extent the metabolic and cell growth-promoting functions of FGF1 could be dissociated. In **chapter 9**, we used peptide-based protein tyrosine kinase and phosphatase activity profiling methods to study more fundamental biological aspects of FGF1 signaling, in particular the regulation of negative feedback. In **chapter 10**, we analyzed FGF and FGFR gene expression levels in the hypothalamus of lean and obese human subjects. Finally, in **chapter 11**, the key findings of this thesis were discussed.

Although several independent research groups have reproduced the metabolic actions of FGF1, the underlying mechanisms remain largely unclear. Concerning its ability to improve NAFLD, the results of **chapter 4** indicate that FGF1 reduces liver fat content most likely by stimulating hepatic lipid catabolism (i.e., beta-oxidation or very-low density lipoprotein (VLDL) secretion). The anti-inflammatory effects of FGF1 appear to be mostly independent of this anti-steatotic effect. In **chapter 5**, we further explored the effects of pharmacological FGF1 administration by combining untargeted and targeted proteomics on the plasma of leptin-deficient *ob/ob* mice that were treated with FGF1. Of particular interest concerning its antisteatotic actions was the ability of FGF1 to increase ApoB100 and ApoC2 plasma levels, which pointed to modulation of VLDL-dependent triglyceride metabolism. In addition, by profiling plasma acylcarnitine concentrations, we also found evidence that FGF1 improved peripheral lipid oxidation. Based on the findings in **chapter 4** and **chapter 5**, we speculate that the antisteatotic activity of FGF1 is related to its ability to stimulate hepatic VLDL secretion and peripheral lipid oxidation.

In **chapter 6**, we found that the antidiabetic effect FGF1 was dependent on its ability to stimulate beta-adrenergic activity, which resulted in enhanced glucose disposal in muscle and heart. Increased sympathetic nervous activity has also been implied in the metabolic effects of FGF19, FGF21, and central FGF1 administration. Collectively, these converging results indicate that FGFs may control metabolism largely through indirect mechanisms involving centrally mediated changes in hormone secretion and effects on the circulatory system. In **chapter 7**, we reported that FGF1 also stimulated acute and chronic glucose uptake in adipocytes by controlling the activity of the glucose transporters GLUT4 and GLUT1. Direct stimulation of adipocyte glucose uptake may provide an additional mechanism through which FGF1 can improve glucose regulation. Whether FGF1 can target similar metabolic processes in humans, and whether this also leads to improvements in blood glucose levels and liver fat content, needs to be evaluated in clinical studies.

In addition to these beneficial metabolic effects, FGF1 is also known to stimulate cellular proliferation, which is considered to be a major obstacle for its use in the clinic. A better understanding of this mitogenic function is therefore needed in order to develop safe FGF1-based drugs. Previous studies have shown that the binding of FGF1 to heparan sulfate proteoglycans or heparin greatly enhances FGF1's ability to stimulate cell growth. In **chapter 8**, we found that a single point mutation in a previously-described heparin-binding site of FGF1 (K118E) substantially reduced FGF1's ability to stimulate mitosis. Reducing the mitogenic activity of FGF1 did not appear to affect its antidiabetic activity, but did come at the expense of substantially lower anti-steatotic efficacy. However, we also showed that K118E retained the

ability to stimulate DNA replication, suggesting that cell cycle progression was abrogated prematurely. As incomplete cell cycle progression may lead to artificial forms of endocycling or endomitosis, cell cycle states in which DNA replication is still taking place but mitosis is absent or incomplete, treatment with K118E may result in the formation of polyploid cells. Polyploidy is expected to alter normal cellular behavior as it can lead to increased cell size. Also, polyploidy is commonly observed in cancer cells and is linked to the formation of aneuploid cells, which can increase genome instability and tumor progression. We, therefore, conclude that the K118E mutant only leads to a partial uncoupling of FGF1's metabolic and mitogenic functions.

Eventually, the metabolic and mitogenic effects of FGF1 are the result of its interactions with FGFRs and the subsequent activation of various downstream kinases and phosphatases. Full understanding of FGF1's metabolic and mitogenic function, therefore, also requires insight into the molecular players that regulate FGF1 signaling. FGF1 activity is primarily determined by a balance of kinase and phosphatase activity. However, methods that can measure the activity of both enzyme classes in complex biological matrices are lacking. In **chapter 9**, we validated the use of the recently developed peptide-based protein tyrosine kinase and phosphatase activity profiling methods to study more fundamental biological aspects of FGF1 signaling. Our results indicate that peptide-based protein tyrosine kinase and phosphatase activity profiling methods are useful in studying the temporal dynamics of growth factor signaling. Also, when combined with bioinformatics analyses, these methods can assist in the elucidation of growth factor signaling pathways. In this regard, we have preliminary evidence that PTPN6 might play a role in regulating the temporal dynamics of FGF1 signaling.

While safe and effective FGF1-based drugs are still being developed, the therapeutic potential of two other members of the FGF hormone family, FGF19 and FGF21, is currently being evaluated in various human clinical trials. However, in contrast to their potent glucose-lowering actions in rodents, FGF19 and FGF21 do not appear to improve glucose levels in humans in a clinically relevant manner. Because preclinical studies have shown that both FGF19 and FGF21 partly improve metabolic homeostasis by acting on the hypothalamus, the lack of antidiabetic efficacy raises questions about the expression of the FGF machinery in human brains. We addressed this question in **chapter 10** by analyzing the gene expression levels of the FGF system in the post-mortem hypothalamus tissue of lean and obese subjects. While we detected robust expression of hypothalamic *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, and the orphan receptor *FGFRL1*, hypothalamic expression of the FGF19/FGF21 co-receptor *KLB* was extremely low. We speculate that low hypothalamic *KLB* expression might explain why the antidiabetic effects of FGF19- and FGF21-based drugs are not recapitulated in humans.

In summary, this thesis provides novel evidence for the underlying mechanisms that play a role in the metabolic and mitogenic functions of recombinant FGF1 and that these functions can be partly uncoupled by generating heparin binding-deficient mutant FGF1 proteins. In addition, we show that peptide-based tyrosine kinase and phosphatase activity profiling methods are useful to study more fundamental biological aspects of growth factor signaling, including signaling dynamics and pathway elucidation. Finally, we speculate that low hypothalamic *KLB* expression may offer a potential explanation for the lack of antidiabetic efficacy of FGF19- and FGF21-based drugs in humans.

# Samenvatting

---

Diabetes type 2 (T2D) en niet-alcoholische leververvetting (NAFLD) zijn wereldwijde gezondheidsproblemen en verhogen het risico op orgaanschade en sterfte. De beschikbare behandelingsopties voor deze obesitas-gerelateerde ziekten omvatten leefstijlinterventie, farmacologische behandeling en bariatrische chirurgie. Verschillende klinische studies hebben aangetoond dat deze behandelingsopties niet bij alle patiënten effectief zijn en kunnen leiden tot ernstige bijwerkingen, waardoor het noodzakelijk is om nieuwe therapeutische doelen te identificeren die de metabole gezondheid verder kunnen verbeteren. Volgens onderzoek van het James-Lind Alliance disease priority setting partnership, wordt de noodzaak om de huidige behandelingsmethoden voor T2D en NAFLD te verbeteren door zowel patiënten als artsen gezien als een belangrijke onderzoeksprioriteit. De opvatting dat er een onvervulde therapeutische behoefte bestaat voor deze patiënten wordt ook erkend door de belangrijkste regelgevende instanties voor geneesmiddelen, waaronder het European Medicines Agency (EMA) en de Amerikaanse Food and Drug Administration (FDA), evenals non-profit diabetes onderzoeksverenigingen zoals de European Association for the Study of Diabetes (EASD) en de American Diabetes Association (ADA).

Twee leden van de fibroblast groeifactorhormoonfamilie (FGF19 en FGF21) zijn geïdentificeerd als potentiële nieuwe kandidaat-geneesmiddelen voor de behandeling van verschillende obesitas-gerelateerde aandoeningen, waaronder T2D en NAFLD. Therapeutische toedieningen van recombinant FGF-eiwit in preklinische diermodellen leidt tot een sterke verlaging van de bloedsuikerspiegel en het vetgehalte in de lever. Tot dusver hebben pogingen om deze bevindingen naar de kliniek te vertalen, geleid tot de ontwikkeling van verschillende op FGF21- en FGF19-gebaseerde geneesmiddelen die inmiddels in verschillende klinische onderzoeken zijn getest.

Meer recent is fibroblast groeifactor 1 (FGF1) geïdentificeerd als een additionele fysiologische regulator van het energiemetabolisme in muizen. Net als bij endocriene FGFs, verlaagt farmacologische toediening van recombinant FGF1-eiwit effectief de bloedglucosespiegel en het levervetgehalte in diermodellen met obesitas en diabetes. In preklinische studies lijkt de metabole activiteit van FGF1 sterker en langduriger te zijn dan die van endocriene FGFs, wat duidt op een duidelijk therapeutisch voordeel. De betrokken metabole routes waarmee FGF1 de bloedsuikerspiegel en het levervetgehalte verbetert, zijn echter nog grotendeels onbekend. Bovendien leidt FGF1-signalering ook tot de stimulering van celgroei, wat een zeer ongewenst effect is met betrekking tot de mogelijke therapeutische toepassing van FGF1 als medicijn. De ontwikkeling van een veilig en effectief op FGF1-gebaseerd medicijn vereist daarom een beter begrip van de relatie tussen de metabole en celgroeibevorderende functies van FGF1. Uiteindelijk zijn de metabole en mitogene functies van FGF1 een weerspiegeling van het vermogen om verschillende cellulaire signaaltransductieroutes te activeren. Een volledig begrip van FGF1-activiteit vereist daarom ook meer kennis van de moleculaire spelers die FGF1-signalering reguleren. Tot slot suggereren preklinische studies dat FGF1, maar ook FGF19 en FGF21, de metabole homeostase verbeteren door aan te grijpen op de hypothalamus. Of het vereiste FGF-receptorsysteem ook aanwezig is in de hypothalamus van mensen blijft onduidelijk.

In dit proefschrift beschrijven we de resultaten van preklinische studies die gericht zijn op het verkrijgen van meer inzicht in het werkingsmechanisme en de veiligheid van FGF1. In **hoofdstuk 1** en **2** presenteren we achtergrondinformatie over de pathofysiologie en behandeling

van T2D en NAFLD, en beschrijven we hoe verschillende leden van de familie van fibroblastgroefactoren, waaronder FGF1, FGF15/19 en FGF21 zijn ontwikkeld tot nieuwe biologische geneesmiddelen voor de behandeling van chronische stofwisselingsziekten. De werkzaamheid en veiligheid van deze op FGF-gebaseerde medicijnen worden momenteel onderzocht in verschillende klinische studies. In **hoofdstuk 3** bespreken we de werkzaamheid en veiligheid van Pegbelfermin, een recent ontwikkelde FGF21-analoog waarvan de therapeutisch waarde voor de behandeling van NAFLD momenteel wordt onderzocht in een fase 2b studie. In **hoofdstuk 4** en **hoofdstuk 5** beschrijven we de resultaten van verschillende preklinische studies die erop gericht zijn de onderliggende mechanismen te identificeren waarmee recombinant FGF1 het lipidenmetabolisme verbetert. In **hoofdstuk 6** en **hoofdstuk 7** beschrijven we de resultaten van preklinische studies die gericht zijn op het begrijpen van hoe FGF1 het glucosemetabolisme reguleert. In **hoofdstuk 8** hebben we de veiligheid van recombinante FGF1-toediening bestudeerd door te kijken in hoeverre de metabole en celgroeibevorderende functies van FGF1 ontkoppeld kunnen worden. In **hoofdstuk 9** hebben we een recent ontwikkelde methode gebruikt om tyrosine kinase- en tyrosine fosfatase-activiteit te bepalen om meer fundamentele biologische aspecten van FGF1-signalering te bestuderen, met name de regulatie van negatieve feedback. In **hoofdstuk 10** hebben we de genexpressieniveaus van FGFs en FGFRs geanalyseerd in post-mortem hypothalamus weefsel afkomstig van normale en obese individuen. Ten slotte worden in **hoofdstuk 11** de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift bediscussieerd.

Hoewel de metabole werking van FGF1 inmiddels door verschillende onafhankelijke onderzoeksgroepen is gereproduceerd, blijven de onderliggende mechanismen waarmee recombinant FGF1 het glucose- en vetmetabolisme verbetert grotendeels onduidelijk. Wat betreft het vermogen om leververvetting te verbeteren, geven de resultaten van **hoofdstuk 4** aan dat FGF1 het levervetgehalte van *ob/ob* muizen waarschijnlijk verlaagt door het stimuleren van het hepatische lipidenkatabolisme (d.w.z. beta-oxidatie of VLDL-secretie). De ontstekingsremmende effecten van FGF1 lijken grotendeels onafhankelijk te zijn van dit anti-steatotische effect. In **hoofdstuk 5** hebben we de effecten van farmacologische toediening van FGF1 verder onderzocht door het uitvoeren van een unbiased proteomics analyse op het plasma van leptine-deficiënte *ob/ob* muizen die werden behandeld met FGF1. Van bijzonder belang met betrekking tot de anti-steatotische werking van FGF1 was het vermogen om de plasmaspiegels van ApoB100 en ApoC2 te verhogen, een bevinding die duidde op modulatie van het triglyceriden en VLDL metabolisme. Verhoogde ApoB100-spiegels waren gekoppeld aan een gelijktijdige verhoging van de plasma triglyceride concentraties en een verhoogde productiesnelheid van triglyceriden-bevattende VLDL partikels. Daarnaast hebben we doormiddel van het profileren van de plasma acylcarnitine concentraties ook aanwijzingen dat FGF1 de oxidatie van vetten verhoogt. Op basis van de bevindingen in **hoofdstuk 4** en **hoofdstuk 5** speculeren we dat de antisteatotische activiteit van FGF1 gerelateerd is aan het vermogen om de VLDL-secretie en de perifere lipide-oxidatie te stimuleren.

In **hoofdstuk 6** hebben we gevonden dat de anti-diabetische effecten van FGF1 in *ob/ob* muizen grotendeels worden veroorzaakt door stimulatie van de bèta-adrenerge activiteit, wat resulteert in een verbeterde glucoseopname in spieren en hart. Een verhoogde sympathische activiteit lijkt ook een rol te spelen bij de metabole effecten van FGF19, FGF21 en na toediening van FGF1 in het brein. Gezamenlijk geven deze convergerende resultaten aan dat FGFs het



metabolisme waarschijnlijk grotendeels beïnvloeden via indirecte mechanismen zoals centraal-gemedieerde veranderingen in de hormoonsecretie en effecten op de bloedsomloop. In **hoofdstuk 7** laten we zien dat FGF1 ook een direct effect heeft op de opname van glucose in vetcellen, waarbij de glucosetransporteiwitten GLUT1 en GLUT4 zijn betrokken. Of FGF1 vergelijkbare metabole processen beïnvloedt in de mens, en of dit ook leidt tot verbeteringen in bloedglucosewaarden en levervetgehalte, moet duidelijk worden uit mogelijke toekomstige klinische studies.

Naast deze metabole effecten is ook bekend dat FGF1 cellulaire proliferatie stimuleert, wat wordt gezien als een belangrijk obstakel voor het gebruik van FGF1 als geneesmiddel. Een beter begrip van deze mitogene functie is daarom nodig om een veilig, op FGF1 gebaseerd medicijn te ontwikkelen. Eerdere studies hebben aangetoond dat de binding van FGF1 aan heparan sulfaat proteoglycanen of heparine het vermogen van FGF1 om celgroei te stimuleren sterk bevordert. In **hoofdstuk 8** vonden we dat een puntmutatie in een eerder beschreven heparine bindingsplaats in het FGF1 molecuul (K118E) het vermogen om mitose te stimuleren aanzienlijk verminderde. Het verminderen van de mitogene activiteit van FGF1 lijkt de anti-diabetische activiteit niet te beïnvloeden, maar leidt wel tot een substantieel lagere anti-steatotische werkzaamheid. We hebben echter ook waargenomen dat de K118E mutant nog steeds in staat is DNA-replicatie te stimuleren, wat aantoont dat het normaal doorlopen van de celcyclus vroegtijdig wordt afgebroken. Omdat een onvolledige progressie van de celcyclus kan leiden tot kunstmatige vormen van endocycling of endomitose (d.w.z. celcyclusvormen waarin DNA-replicatie nog steeds plaatsvindt maar mitose afwezig of onvolledig is), kan behandeling met K118E mogelijk resulteren in de vorming van polyploïde cellen. Polyploïdie kan leiden tot veranderingen in celgrootte, maar wordt ook vaak waargenomen in kankercellen en is gekoppeld aan de vorming van aneuploïde cellen. Aangezien aneuploïdie kan bijdragen aan genominstabiliteit en tumorprogressie, is er meer onderzoek nodig om de werkzaamheid en veiligheid van niet-mitogene FGF1 varianten te bepalen. We concluderen daarom dat de K118E-mutant alleen leidt tot een gedeeltelijke ontkoppeling van metabole en celgroeibevorderende functies van FGF1.

Uiteindelijk zijn de metabole en mitogene functies van FGF1 een weerspiegeling van het vermogen om verschillende cellulaire signaaltransductieroutes te activeren. De activiteit van deze signaaltransductieroutes wordt voornamelijk bepaald door een balans van kinase- en fosfatase-activiteit. Echter, methoden die de activiteit van beide enzymklassen in complexe biologische matrices kunnen meten waren tot voorkort niet beschikbaar. In **hoofdstuk 9** hebben we recent ontwikkelde tyrosine kinase en fosfatase profileringsmethoden gebruikt om meer fundamentele biologische aspecten van FGF1-signalering te bestuderen. Onze resultaten geven aan dat tyrosine kinase en fosfatase profileringsmethoden met name nuttig zijn bij het bestuderen van de dynamiek van groeifactor-signalering. In combinatie met bioinformatica-analyses kunnen deze methoden ook helpen bij het ophelderen van groeifactor-signaleringsroutes. In dit verband hebben we preliminair bewijs dat de fosfatase PTPN6 mogelijk een rol speelt bij feedback regulatie van FGF1-signalering.

Hoewel de ontwikkeling van op FGF1-gebaseerde geneesmiddelen nog steeds in volle gang is, wordt de veiligheid en effectiviteit van op FGF19- en FGF21-gebaseerde recombinante eiwitten bij de behandeling van T2D en NAFLD momenteel onderzocht in verschillende klinische studies. In tegenstelling tot hun potente glucose-verlagende werking in knaagdieren,

lijken op FGF19- en FGF21-gebaseerde recombinante eiwitten de glucosespiegels bij mensen niet op een klinisch relevante manier te verbeteren. Omdat preklinische studies hebben aangetoond dat zowel FGF19 als FGF21 de metabole homeostase gedeeltelijk verbeteren door aan te grijpen op FGF receptoren in de hypothalamus, roept het gebrek aan anti-diabetische werkzaamheid vragen op over de aanwezigheid van FGF receptoren in menselijke hersenen. We hebben deze vraag proberen te beantwoorden door in **hoofdstuk 10** de genexpressieniveaus van FGF receptoren te analyseren in post-mortem hypothalamusweefsel afkomstig van slanke en obese individuen. In deze studie zien we robuuste expressie van *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3* en *FGFRL1*, terwijl de hypothalamische expressie van de FGF19/FGF21 co-receptor *KLB* extreem laag is. We vermoeden dat de lage hypothalamische *KLB*-expressie mogelijk verklaart waarom FGF19 en FGF21 de glucosespiegels bij mensen niet verbeteren.

Samenvattend levert dit proefschrift nieuwe inzichten in de onderliggende mechanismen die een rol spelen bij de metabole en celgroeibevorderende functies van recombinant FGF1, en dat deze functies gedeeltelijk kunnen worden ontkoppeld door het genereren van mutante FGF1-eiwitten. We laten ook zien dat tyrosine kinase- en fosfatase profileringsmethoden nuttig zijn bij het bestuderen van meer fundamentele biologische aspecten van groeifactor-signalering. Ten slotte stellen we dat een lage hypothalamische *KLB*-expressie een mogelijke verklaring zou kunnen zijn voor het gebrek aan anti-diabetische werkzaamheid van de op FGF19- en FGF21-gebaseerde geneesmiddelen in mensen.



# Dankwoord

---

Ook al is het promotieonderzoek slechts een tussenstation in het werkzame leven, het afronden ervan leidt dikwijls tot enige vorm van reflectie waarbij de conclusie eigenlijk altijd hetzelfde is: persoonlijke en intellectuele ondersteuning van familie, vrienden en collega's is onmisbaar. Daarom wil ik middels dit dankwoord graag een aantal mensen bedanken die mij tijdens het promotieonderzoek en bij de enigszins ongewone aanloop daarnaartoe hebben geïnspireerd, gemotiveerd en gesteund.

Laat ik beginnen bij het begin. Beste **pap** en **mam**, ik denk dat jullie al snel doorhadden dat je kinderen maar weinig kunt sturen en ik wil jullie daarom bedanken voor alle vrijheid die ik heb gekregen om mijn eigen pad te volgen. Laatst kwam ik dit opvoedkundige principe tegen in het boek *Individu* van de Zwitserse kinderarts en onderzoeker Remo Largo, waarin hij onder andere zegt: “*Je individuele leven leiden is de zin van het bestaan.*” Ik hoop dat deze opvoedingsfilosofie ook goed uitpakt bij mijn eigen kinderen.

**Louise Johanna Struik-van Groningen**, onze gedeelde interesse voor wetenschap en politiek heeft op mij een zeer stimulerende werking gehad. Ook liet jij mij kennismaken met bekende wetenschappers zoals Dick Swaab, Daniel Dennett, Richard Dawkins en Bas Haring. Het lezen van hun boeken heeft mij zeer geïnspireerd en heeft zeker bijgedragen aan mijn ontwikkeling tot onderzoeker. De boeken van Govert Schilling hebben zelfs nog aanleiding gegeven tot het aanschaffen van een spiegeltelescoop waarmee wij vanaf jouw balkon de sterrenhemel hebben geobserveerd. Bedankt voor de leuke gesprekken en de interesse die je had voor mijn studieactiviteiten.

Ook wil ik graag **Huib Batenburg**, docent biologie, en **Robert Tholen**, docent natuur- en wiskunde, bedanken voor hun inspirerende colleges. Beste **Huib**, in één van je eerste biologiecolleges sprak jij over het beroemde Miller-Urey experiment uit 1953, waarin werd aangetoond dat onder bepaalde omstandigheden, de zogenaamde oersoepcondities, bouwstenen voor het leven kunnen ontstaan. Ik weet niet of dit onderwerp echt onderdeel was van het curriculum, maar voor mij was dit hét moment waarop ik interesse begon te krijgen voor wetenschap. Beste **Robert**, door jouw hedendaagse natuurkundecolleges ben ik nu waarschijnlijk één van de weinige niet-natuurkundigen die bekend is met het werk van Richard Feynman. De gesprekken die we hierover hebben gehad hebben zeker bijgedragen aan “*the pleasure of finding things out*”.

Ook dank aan **prof. dr. Bart Jan Kroese**, **drs. Henk Gorris**, **dr. Martijn de Groot**, **prof. dr. Eddy van der Zee** en **prof. dr. Liana Fattore** voor alle adviezen, begeleiding en de mogelijkheid om onderzoek te doen in jullie onderzoeksgroep.

Uiteraard wil ik ook graag mijn promotoren **prof. dr. Hans Jonker** en **prof. dr. Henkjan Verkade**, en copromotor **dr. Janine Kruit**, bedanken voor het begeleiden van het promotieonderzoek en het daaruit voorkomende proefschrift. Beste **Hans**, tijdens onze eerste kennismaking ging het al snel over jouw ontdekking dat FGF1 een sleutelrol speelt bij de remodelering van het vetweefsel, een bevinding die toen net was gepubliceerd in het prestigieuze wetenschappelijke tijdschrift *Nature*. Daarnaast was ook al bekend dat farmacologische toediending van FGF1 buitengewone effecten had op de bloedsuikerspiegel en het levervetgehalte in muizen met diabetes, bevindingen die wederom in *Nature* verschenen. De grote vraag was natuurlijk wat het onderliggende mechanisme van deze metabole effecten was.

Uiteindelijk heb je **Weilin Liu, Tim van Zutphen, Vera Nies** en mij een carte blanche gegeven om deze mechanismen naar eigen inzicht verder op te helderen. In het begin was bij veel van onze Eureka momenten je reactie “*dat wisten we toch al*”, en bleek dat jij het experiment lang geleden zelf al een keer had gedaan, waardoor wij het gevoel kregen dat jij het mechanisme al kende. Nadat wij instaat bleken om jouw resultaten te reproduceren, hebben wij gelukkig ook zelf nog enkele nieuwe bevindingen gedaan. De academische vrijheid (“*think big*”) die je ons hebt gegeven heeft veel creativiteit naar boven gehaald en bijgedragen aan de identificatie van verschillende mechanismen die kunnen verklaren hoe FGF1 het glucose- en vetmetabolisme reguleert. Nu alleen de rest van de wereld nog overtuigen!

Daarnaast heb je mij ook de kans gegeven om een bijdrage te leveren aan andere onderzoeksprojecten, met natuurlijk als hoogtepunt onze co-auteurschap met de zeer befaamde Nederlandse hersenwetenschapper prof. dr. Dick Swaab. Ik heb elke dag met veel plezier aan het promotieonderzoek gewerkt en ik hoop dat ik als postdoc een nuttige bijdrage kan leveren aan de verschillende onderzoeksprojecten.

Beste **Henkjan**, met jouw klinische blik en ultra kritische denkvermogen lukt het je om vrijwel gehele onderzoeksgroep scherp te houden. Zo heeft het mij heel wat hoofdbreken gekost om te bedenken waarom je überhaupt het mechanisme van potentieel nieuw medicijn zou willen onderzoeken, kortom de centrale vraag in dit proefschrift. Ik denk dat ik inmiddels toch een antwoord op deze fundamentele vraag heb gevonden. Per toeval ontdekte ik dat jouw diepgewortelde kritische houding deels terug te voeren is naar de filosofie van jouw vriend Zemin Yao, die stelde: “*Er is maar één omstandigheid waarin je niet beter kunt worden of beter kunt maken, en dat is een omgeving waarin je je niet omringt weet door kritische mensen.*” Bedankt voor het creëren van deze stimulerende omgeving en de positieve effecten daarvan op mijn promotieonderzoek en proefschrift.

Beste **Janine**, bedankt voor je interesse in het FGF1 onderzoek en je ontelbare kritische vragen tijdens de wekelijkse meetings. Achteraf blijkt ook dat een door jou en Vera uitgevoerd experiment met diabetes type 1 muizen een sleutelrol heeft gespeeld bij de ontdekking dat FGF1 de bloedglucosespiegels in diabetes type 2 muizen reguleert middels het verhogen van de sympathische activiteit. Een typische gevalletje van serendipiteit. Het lijkt mij ook nog steeds interessant om het effect van FGF1 op bètacelfunctie beter te bestuderen. Ook bedankt dat je wilde optreden als copromotor.

Ook zeer veel dank aan de leden van de leescommissie, **prof. dr. A.J.A. van de Sluis**, **prof. dr. M.A.T.M. van Vugt** en **prof. dr. E. Kalkhoven**, voor het kritische beoordelen van dit proefschrift.

Beste **Niels Mulder** en **Roos Eilers**, erg leuk dat jullie mijn paranimfen willen zijn! Beste **Niels**, onze paden hebben elkaar de afgelopen 20 jaar meerdere keren gekruist. Leuk dat je er ook vandaag weer bij bent. Beste **Roos**, heel erg bedankt voor al je hulp en gezelligheid bij de laatste loodjes.

Uiteraard wil ik ook alle (ex-)collega's en studenten van **Laboratorium Kindergeneeskunde** bedanken voor hun hulp bij het uitvoeren van het promotieonderzoek en het creëren van een zeer prettige werksfeer. Collega's en studenten die ik graag nog even expliciet wil bedanken omdat zij een directe bijdrage hebben geleverd aan de totstandkoming van dit proefschrift zijn: **Vera Nies, Tim van Zutphen, Weilin Liu, Theo van Dijk, Vincent**

**Bloks, Rick Havinga, Marleen Dommerholt, Ivo van de Peppel, Cristy Verzijl, Jana van Vliet-Ostapchouk, Karin Wolters, Ivana van der Knaap en Jessica Del Castillo Alvarez.**

Beste **Vera**, bedankt dat ik me met jouw experimenten mocht bemoeien, wat uiteindelijk heeft geresulteerd in een zeer leuke samenwerking en het heel effectief kunnen voortzetten van het FGF1 onderzoek. Inmiddels ben jij een nieuw pad ingeslagen, maar ik mag je gelukkig nog steeds lastigvallen met FGF1. Beste **Tim**, ook jij bent een FGF1-onderzoeker van het eerste uur en ik heb dan ook zeer veel gehad aan onze informele wetenschappelijke gesprekken. Ik denk zelfs dat de beste nieuwe ideeën vlak na deze gesprekken zijn ontstaan. Beste **Weilin**, bedankt voor de leuke samenwerking die uiteindelijk heeft geleid tot een mooie publicatie in het gerenommeerde tijdschrift *PNAS*. Best **Theo**, bedankt voor je hulp bij het opzetten, uitvoeren en berekenen van de *in vivo* glucose- en lipidenflux metingen. Jouw analyses hebben voor mij altijd de wetenschappelijk basis gevormd bij het verder begrijpen van hoe FGF1 het glucose- en vetmetabolisme reguleert. Best **Vincent**, bedankt voor je hulp bij het analyseren van verschillende micro-array datasets en het doorsturen van FGF-gerelateerde literatuur, welke beide richting hebben gegeven aan het promotieonderzoek. Beste **Rick**, jij voert microchirurgische ingrepen met hetzelfde gemak uit als dat je leven in de brouwerij brengt. Was het altijd maar zo gezellig. Beste **Marleen**, bedankt voor je hulp bij het schrijven van de FGF review en het verkrijgen van de FGF1 mutanten uit Denemarken. Ook gaan we jou als organisator van de VriMiBo erg missen. Beste **Ivo**, bedankt voor de vlotte samenwerking aangaande de review over Pegbelfermin en de leuke gesprekken die ik met je heb gehad over medische vraagstukken. Leuk dat ik je heb kunnen besmetten met de ideeën van de Amerikaanse filosoof Sam Harris. Ik ga mij binnenkort eens verdiepen in het werk van Peter Attia. Beste **Cristy**, ook jij bedankt voor je hulp bij het schrijven van de review over Pegbelfermin en ik ben heel blij dat jij het FGF1 onderzoek gaat voortzetten. Beste **Jana**, bedankt voor de leuke samenwerking en het beschikbaar stellen van jouw unieke set van humane hypothalamische samples. Beste **Karin**, bedankt voor je hulp bij het genereren van de proteomics data en de zeer zorgvuldig analyse daarvan die op de valreep nog een extra hoofdstuk hebben opgeleverd. Wordt vervolgd! Ook veel dank aan de studentes **Ivana** en **Jessica** voor hun inzet en belangrijke bijdragen aan dit proefschrift.

Daarnaast werd en wordt de prettige werksfeer mede mogelijk gemaakt door: **Marcela Doktorova, Angelika Jurdzinski, Danny Kor, Aycha Bleeker, Trijnie Bos, Hilde Rozema-Haaksema, Evelien Warmelts, Onne Ronda, Martijn Rutten, Andries Heida, Bart van de Sluis, Jan Albert Kuivenhoven, Folkert Kuipers, Klary Niezen-Koning, Dolf Raatjes, Renze Boverhof, Tjasso Blokzijl, Dianne Jansen, Manon Buist, Janet Heegsma, Jan Freark de Boer, Henk Wolters, Karen van Eunen, Debby Koonen, Dirk-Jan Reijngoud, Joanne Hoogerland, Maaïke Oosterveer, Irene Zwarts, Ana Huerta Guervara, Natalia Loaiza Velasquez, Anna Bertolini, Dorieke Dijkstra, Maaïke Blankestijn, Martijn Koehorst, Andrea Postmus, Mathilda Arvidsson Kvissberg, Lars Larsen, Alfredo Rios Ocampo, Danial Afsharzadeh, Ali Saeed, Martijn van Faassen, Natalia Smit, Milaine Hovingh, Angela Tol, Hilde de Vries, Esther Verkade, Anna Palmiotti en vele anderen.**

Ten slotte wil ik nog een aantal vrienden en familieleden bedanken voor alle steun, interesse en gezelligheid tijdens alle niet-wetenschappelijke activiteiten, in het bijzonder **Ismail, Lucas, Eeuwe, Tommy, Chantal, Fynn, Liv, Gerard, Wies, Jan, Marga, Bianka, Stefan, Suzanne, Marina, Maarten, Jasmijn, Matthijs, en Colin.**

Lieve **Karin**, bedankt voor al je steun de afgelopen jaren en het draaiende houden van ons gezinnetje. Ook bedankt voor je geduld als het weer eens wat later werd of als ik 's avonds of in het weekend nog "*even*" met mijn werk bezig moest. Inmiddels ben je het al zo gewend dat je nu wel eens zegt "*moet je niet nog even met je werk bezig?*", wat natuurlijk codetaal is voor "*ik wil even Netflixen*". Vanaf nu weer wat vaker samen Netflixen? Lieve **Amber**, "*papa's boekje*" is eindelijk af! Nu kan ik 's avonds eindelijk een keer wat voorlezen uit eigen werk. Of toch liever "*Arme Takkie*"? En trouwens, echt leuk dat je "*K3 wilt worden*"! Lieve **Fenna**, hebben we toch nog even samen onder het genot van 120 mL warme melk de puntjes op de i gezet!





# Curriculum vitae

---



Dicky Struik was initially trained as a technician, after which he obtained a master's degree in Biomedical Sciences at the University of Groningen. He finished his studies as an Erasmus student in the Department of Neuroscience at the University of Cagliari (Italy). His research at the University of Cagliari resulted in two first-author publications. After his studies, he continued to work as a research technician in the Laboratory of Pediatrics at the University Medical Center Groningen. Within the same department, he started a Ph.D. project aimed at understanding the metabolic and mitogenic functions of fibroblast growth factor 1. He is now following up on his FGF research line as a postdoctoral researcher.

# Publications

---

**2020**

Verzijl, C. R. C., Van De Peppel, I. P., **Struik, D.** & Jonker, J. W. (2020) Pegbelfermin (BMS-986036): an investigational PEGylated fibroblast growth factor 21 analogue for the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Expert Opin. Investig. Drugs* 1–9. doi:10.1080/13543784.2020.1708898

**2019**

Bogie, J., Hoeks, C., Schepers, M., Tiane, A., Cuypers, A., Leijten, F., Chintapakorn, Y., Suttiyut, T., Pornpakakul, S., **Struik, D.** ... Mulder, M. (2019). Dietary Sargassum fusiforme improves memory and reduces amyloid plaque load in an Alzheimer's disease mouse model. *Scientific Reports*, 9(1), [4908]. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41399-4>

**Struik, D.**, Dommerholt, M. B., & Jonker, J. W. (2019). Fibroblast growth factors in control of lipid metabolism: from biological function to clinical application. *Current opinion in lipidology*. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41399-4>

**2018**

**Struik, D.**, Sanna, F., & Fattore, L. (2018). The Modulating Role of Sex and Anabolic-Androgenic Steroid Hormones in Cannabinoid Sensitivity. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12, [249]. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00249>

Nies, V. J. M., **Struik, D.**, Wolfs, M. G. M., Rensen, S. S., Szalowska, E., Unmehopa, U. A., ... van Vliet-Ostapchouk, J. V. (2018). TUB gene expression in hypothalamus and adipose tissue and its association with obesity in humans. *International Journal of Obesity*, 42(3), 376-383. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.214>

**2017**

van der Meer, T. P., Artacho-Cordón, F., Swaab, D. F., **Struik, D.**, Makris, K. C., Wolffenbuttel, B. H. R., ... van Vliet-Ostapchouk, J. V. (2017). Distribution of Non-Persistent Endocrine Disruptors in Two Different Regions of the Human Brain. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(9), [1059]. <https://doi.org/10.3390/ijerph14091059>

**Struik, D.**, Fadda, P., Zara, T., Zamberletti, E., Rubino, T., Parolaro, D., ... Fattore, L. (2017). The anabolic steroid nandrolone alters cannabinoid self-administration and brain CB1 receptor density and function. *Pharmacological research*, 115, 209-217. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.11.031>

**2016**

Liu, W., **Struik, D.**, Nies, V. J. M., Jurdzinski, A., Harkema, L., de Bruin, A., ... Jonker, J. W. (2016). Effective treatment of steatosis and steatohepatitis by fibroblast growth factor 1 in mouse models of nonalcoholic fatty liver disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(8), 2288-2293. <https://doi.org/10.1073/pnas.1525093113>

Nies, V. J. M., Sancar, G., Liu, W., van Zutphen, T., **Struik, D.**, Yu, R. T., ... Downes, M. R. (2016). Fibroblast Growth Factor Signaling in Metabolic Regulation. *Frontiers in endocrinology*, 6, [193]. <https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00193>

*I got hustle, though, ambition, flow*  
*Inside my DNA*

Kendrick Lamar