

University of Groningen

## Gut microbiota and nuclear receptors in bile acid and lipid metabolism

Out, Carolien

**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:*

2014

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

*Citation for published version (APA):*

Out, C. (2014). *Gut microbiota and nuclear receptors in bile acid and lipid metabolism: bile acids, more than soaps*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. [S.n.].

### 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.

# CHAPTER 9

**Summary**

**Nederlandse samenvatting voor niet-  
ingewijden**

**Dankwoord / Acknowledgement**

**Biografie / Biography**

**List of publications**



## SUMMARY

Metabolic syndrome refers to the combination of obesity, hypertension, dyslipidemia and insulin resistance. Metabolic syndrome is associated with a pro-inflammatory state and it greatly increases the chance on cardiovascular disease and type 2 diabetes. Strategies to prevent and treat these metabolic derangements are therefore urgently needed. For this purpose better insight in the regulation of inter- and intra-organ metabolic pathways is of key relevance.

The role of nutrients, like glucose and fatty acids, as important regulators of metabolic processes has become evident, especially after their identification as ligands of transcription factors. In response to ligand binding, transcription factors adjust the expression of metabolic enzymes. Several nuclear receptors show a strong circadian expression pattern and are interconnected with the peripheral clock, thereby linking nutrient sensing to circadian control of metabolism.

After a meal, bile acids increase in the intestine, liver and systemic circulation. The role of bile acids as signaling molecules in metabolism and inflammation has been identified through the discovery of their receptors, including Fxr, Tgr5, Vdr and Pxr. In **Chapter 2** we review the various effects that bile acids exert on metabolism. By binding to Fxr, bile acids can regulate several metabolic pathways including bile acid synthesis, triglyceride metabolism and gluconeogenesis, whereas bile acid activation of Tgr5 influences macrophage function, energy homeostasis and the secretion of gastro-intestinal insulinotropic hormones. Hereby, bile acids relay information regarding ingestion and energy availability to peripheral tissues. The nuclear receptor Lrh1 is a transcription factor that is expressed predominantly in the organs that constitute the enterohepatic axis. Lrh1 has been implicated in the regulation of bile acid synthesis. In **Chapter 3** we show that Lrh1 functions as a critical factor for adequate induction of hepatic bile acid synthesis under conditions of high bile acid loss. In **Chapter 4** we show that Lrh1 is also an important factor in regulating liver triglyceride metabolism in both mice and man.

The importance of a balanced, well-coordinated interplay within a metabolic network is illustrated by the various metabolic derangements observed in relation to aberrant nuclear receptor signaling. An increasing level of evidence reveals that gut microbiota are associated with metabolic diseases such as obesity, diabetes and cardiovascular

disease. The human intestine harbors nearly 100 trillion intestinal bacteria, whose composition is partly influenced by dietary factors. They contribute to human nutrient metabolism, for example by breaking down non-digestible dietary polysaccharides, which enhances energy extraction from the diet, and by synthesizing vitamins and other substances which cannot be made by the host. Bacteria also deconjugate bile acids and convert primary bile acids into secondary ones. In **Chapter 5** we show that gut microbiota inhibit the enterohepatic recycling of bile acids by repressing intestinal *Asbt* expression via a Gata4-mediated mechanism. In **Chapter 7** we show that glucocorticoids, in contrast to gut microbiota, enhance bile acid reabsorption in the small intestine via induction of *Asbt* expression. It is known that gut microbiota inhibit intestinal glucocorticoid synthesis and influence the immune system. They are recognized by TLRs, which activate immune-cell responses crucial for maintaining epithelial barrier integrity, preventing inflammation and the development of a durable immune system. The bile acid receptors Fxr and Tgr5 are involved in this regulation of the intestinal barrier and immune function. By metabolizing bile acids, gut microbiota may thus alter the bile acids' capacity to activate their receptors and influence the intestinal immune system. Altered activation of bile acid receptors may however also have effects on other metabolic processes. In **Chapter 6** we show that gram-positive intestinal microbiota, particularly of the *Firmicutes* phylum modulate bile acid and glucose homeostasis in humans. Vancomycin treatment reduced fecal microbial diversity, changed bile acid composition in feces and plasma, and decreased peripheral insulin sensitivity in obese subjects.

Thus, microbial disbalance alters bile acid homeostasis, modulates gut permeability and activates inflammatory signaling pathways, leading to altered activation of bile acid receptors and chronic low grade inflammation. These observations link gut microbiota with metabolic disorders and highlight the importance of a balanced microbial flora.

## NEDERLANDSE SAMENVATTING VOOR NIET-INGEWIJDEN

Overgewicht (BMI > 25 kg/m<sup>2</sup>) is een conditie waarbij er meer energiereserve is opgeslagen in vet dan normaal. Dit ontstaat wanneer de inname van calorieën niet in evenwicht is met de verbranding daarvan door lichaamsbeweging. De opbouw en afbraak van stoffen, ook wel de stofwisseling genoemd, is niet in balans. Een body mass index (BMI) van meer dan 30 kg/m<sup>2</sup> wordt beschouwd als obesitas. Obesitas vergroot het risico op gezondheidsproblemen zoals het metabool syndroom. Dit is een combinatie van hoge bloeddruk, verhoogde bloedsuikers en een verstoord vetgehalte in het bloed (zoals een hoog cholesterol). Patiënten met het metabool syndroom hebben een verhoogd risico op het ontwikkelen van diabetes type 2 en hart- en vaatziekten. Het aantal mensen met obesitas en het metabool syndroom is de laatste jaren aanzienlijk toegenomen. Leefstijladviezen blijken niet voldoende effectief om deze epidemie tegen te gaan. Daarom is er dringend behoefte aan nieuwe therapieën. Door de stofwisseling te verhogen, zou de balans tussen calorie inname en verbranding weer hersteld kunnen worden. Het is bekend dat galzouten de stofwisseling kunnen beïnvloeden, daarom wordt er de laatste jaren steeds meer onderzoek gedaan naar het verband tussen galzouten en het metabool syndroom.

Galzouten worden in de lever gemaakt uit cholesterol. Vervolgens worden ze opgeslagen in de galblaas. Na het eten van een (vette) maaltijd wordt de gal uitgescheiden in de dunne darm. Daar functioneren galzouten als een soort zepen die vetdeeltjes uit de voeding oplossen. Hierdoor kunnen de vetdeeltjes gemakkelijker verteerd en opgenomen kunnen worden. Het is niet voor niets dat beren- en ossengal al jaren worden verwerkt in zeep en bekend staan als de beste remedie tegen vetvlekken.

Wanneer de voeding verteerd is, worden de galzouten heropgenomen in het laatste deel van de dunne darm. Ze worden terug getransporteerd naar de lever, waar ze opnieuw uitgescheiden kunnen worden in de gal. Door dit efficiënte hergebruik gaat er maar een klein deel van de galzouten verloren met de ontlasting. Dit deel wordt door de lever aangevuld met de aanmaak van nieuwe galzouten. Hierdoor blijft de totale hoeveelheid galzouten in het lichaam gelijk. De productie van nieuwe galzouten is echter niet continu over de dag, maar wordt nauw gereguleerd in reactie op verschillende signalen. Het eten van suikers en cholesterol zorgt bijvoorbeeld voor verhoging van de productie.

In de afgelopen jaren is duidelijk geworden dat galzouten meer zijn dan zepen, ze kunnen ook verschillende stofwisselingsprocessen in het lichaam beïnvloeden. Deze invloed op de stofwisseling wordt bewerkstelligd doordat de galzouten in de lever en de darm kunnen binden aan receptoren in en aan het oppervlak van de cel. Deze receptoren brengen in de cel een cascade aan reacties teweeg. Dit heeft als resultaat dat bepaalde genen op het DNA 'aan' of 'uit' worden gezet. Via dit mechanisme wordt de aanmaak van het enzym gereguleerd dat ervoor zorgt dat er nieuwe galzouten gemaakt worden. Op deze manier kunnen galzouten dus hun eigen aanmaak reguleren. Daarnaast kunnen via dit mechanisme ook genen beïnvloedt worden die betrokken zijn bij de stofwisseling van suikers en vetten. Omdat bij het metabool syndroom deze stofwisseling ontregeld is, worden galzouten en hun receptoren gezien als aantrekkelijke aangrijpingspunten voor nieuwe behandelingen hiervan. De verschillende effecten die galzouten hebben op de stofwisseling en hun toepassing als potentiële therapie worden besproken in **hoofdstuk 2**.

In **hoofdstuk 3** hebben we gekeken naar het enzym in de lever (Cyp7a1) dat verantwoordelijk is voor de omzetting van cholesterol naar galzouten. Door een middel toe te dienen dat galzouten bindt in de darm, kan een grote hoeveelheid galzouten niet heropgenomen worden door de dunne darm. Deze galzouten gaan vervolgens verloren met de ontlasting. Hierdoor moet de aanmaak van nieuwe galzouten flink verhoogd worden. In voorgaande onderzoeken is gesuggereerd dat het eiwit Lrh1 in de lever mogelijk een rol speelt bij het activeren van het gen Cyp7a1. Om te onderzoeken of dit het geval is, hebben we een galzoutbinder gegeven aan gewone muizen en aan muizen waarin het eiwit Lrh1 is uitgeschakeld. We laten zien in **hoofdstuk 3** dat Lrh1 inderdaad belangrijk is voor het 'aan' zetten van het gen Cyp7a1. In muizen waarin Lrh1 is uitgeschakeld kan Cyp7a1 niet 'aan' gezet worden, waardoor de productie van nieuwe galzouten niet verhoogd kan worden.

Het eiwit Lrh1 heeft nog andere functies, in **hoofdstuk 4** laten we zien dat Lrh1 ook betrokken is bij het reguleren van het vetgehalte in de lever van muizen en mensen. Mensen met een hoog vetgehalte in de lever bleken een lager niveau van Lrh1 te hebben. De hoeveelheid Lrh1 bleek omgekeerd evenredig met het vetgehalte in de lever. Daarnaast zagen we dat uitschakeling van Lrh1 in muizen eveneens leidt tot een verhoogd vetgehalte in de lever. Dit wordt veroorzaakt door een verminderde afbraak van vetzuren in de lever, zonder dat de aanmaak van nieuwe vetzuren wordt geremd.

Samengevat laten we dus zien in **hoofdstuk 3 en 4** dat het eiwit Lrh1 een belangrijke rol speelt bij de afbraak van cholesterol en vetzuren. Dit betekent dat medicijnen die Lrh1 kunnen activeren, mogelijk een positief effect hebben op de afbraak van deze stoffen.

In **hoofdstuk 5** hebben we gekeken naar de invloed van darmbacteriën op de galzouthuishouding. De darmflora bestaat uit meer dan 2000 verschillende soorten bacteriën. Een ongeboren dier heeft nog geen bacteriën in zijn maag-darmstelsel. Tijdens en na de geboorte komt het in contact met bacteriën en ontwikkelt de darmflora zich, met een voor ieder wezen unieke samenstelling. In **hoofdstuk 5** hebben we een experiment gedaan met muizen zonder darmflora en muizen die behandeld werden met antibiotica om hun darmflora te verminderen. We zagen dat dit leidde tot een verhoogde heropname van galzouten in de dunne darm. Dit werd veroorzaakt door een verhoging van het eiwit dat galzouten kan (her)opnemen. Blijkbaar hebben darmbacteriën dus invloed op de aanmaak van dit eiwit. Als reactie op de verhoogde heropname van galzouten werd de aanmaak van nieuwe galzouten in de lever verlaagd. Omgekeerd, zou dit dus betekenen dat in de normale situatie (zonder antibiotica) darmbacteriën juist de (her)opname van galzouten in de dunne darm verlagen. Dit zou een positief effect kunnen hebben op de afbraak van cholesterol om nieuwe galzouten te vormen.

Zoals hierboven beschreven kunnen galzouten de stofwisseling van suikers en vetten beïnvloeden. Er zijn steeds meer aanwijzingen dat ook darmbacteriën de stofwisseling van hun gastheer beïnvloeden. Darmbacteriën zijn in staat om de structuur van galzouten te veranderen. Het zou dus zo kunnen zijn dat darmbacteriën de stofwisseling beïnvloeden via hun effect op galzouten. In **hoofdstuk 6** hebben we daarom gekeken naar de invloed van de darmflora op de stofwisseling van suikers. Patiënten met overgewicht kregen gedurende een week een antibioticakuur. Dit veranderde de samenstelling van de darmflora, wat negatieve gevolgen had op de suikerstofwisseling. De patiënten kregen een 'voorstadium' van diabetes type 2. Tegelijkertijd waren er minder galzouten aanwezig die bewerkt waren door bacteriën. Ieder type galzout heeft een ander effect op de receptor waar ze aan binden. Door de veranderde samenstelling van de galzouten kunnen de receptoren daarom andere signalen afgeven, wat effect heeft op het 'aan' en 'uit' zetten van genen die betrokken zijn bij de suikerstofwisseling. Dit zou kunnen verklaren waarom er veranderingen optreden in de suikerstofwisseling.



ling na het geven van antibiotica. Deze resultaten benadrukken het belang van een gebalanceerde darmflora voor een goede stofwisseling.

Ook veranderingen in het immuunsysteem in de darm kunnen invloed hebben op de stofwisseling. Het is bekend dat darmbacteriën het immuunsysteem in de darm beïnvloeden en de aanmaak van ontstekingsremmende hormonen in de darm remmen. In **hoofdstuk 7** hebben we muizen behandeld met het ontstekingsremmende hormoon prednisolon. Ook dit resulteerde in verhoogde heropname van galzouten in de dunne darm. Als reactie hierop werd de aanmaak van nieuwe galzouten geremd. Daarnaast zagen we dat er meer cholesterol uitgescheiden wordt naar de ontlasting, wat een gunstig effect zou kunnen hebben op de cholesterolwaarden in het bloed. Dit zou de kans op aderverkalking kunnen verlagen.

Vanwege de effecten die darmbacteriën hebben op galzouten en het immuunsysteem – twee factoren die invloed hebben op de stofwisseling – wordt de darmflora steeds meer gezien als een belangrijke factor die de stofwisseling kan beïnvloeden. Een ongebalanceerde darmflora wordt steeds vaker in verband gebracht met een verstoorde stofwisseling, zoals bij het metabool syndroom. Het biedt echter ook mogelijkheden tot therapie, bijvoorbeeld het beïnvloeden van de darmflora met behulp van bepaalde stoffen. Zo heeft de toediening van probiotica (voeding met levende bacteriën) een positieve invloed op het cholesterol niveau in het bloed. Doordat er meer galzouten worden uitgescheiden met de ontlasting in de aanwezigheid van bepaalde bacteriën, moet het lichaam meer nieuwe galzouten produceren. Dit wordt gedaan door cholesterol om te zetten in galzouten.

Om in de toekomst nieuwe en specifiekere therapieën te kunnen ontwikkelen tegen de verschillende onderdelen van het metabool syndroom, is het belangrijk om meer kennis te vergaren over de factoren die betrokken zijn bij het ontstaan van het metabool syndroom. Daarvoor is het van belang dat allereerst de effecten van darmbacteriën op hun gastheer nog beter in kaart worden gebracht. Ook is het belangrijk om te weten: hoe het dieet de darmflora kan beïnvloeden, hoe darm en lever met elkaar communiceren, aan welke receptoren galzouten en andere voedingsstoffen kunnen binden en wat voor signalen deze receptoren afgeven. In het laboratorium kunnen dan synthetische stoffen worden geproduceerd die deze receptoren kunnen stimuleren of blokkeren. Dit alles kan informatie opleveren over de ontstaanswijze van

ziekten en aanknopingspunten bieden voor het ontwikkelen van nieuwe therapieën gericht tegen het metabool syndroom.



## DANKWOORD / ACKNOWLEDGEMENT

En dan nu het hoofdstuk dat waarschijnlijk door velen als eerste en het meest gelezen zal worden!

Dit proefschrift zou niet tot stand gekomen zijn zonder alle onmisbare hulp en steun van begeleiders, collega's, familie en vrienden. Tijdens het proces werd ik door een hoop mensen bijgestaan in voor- en tegenspoed. Een aantal hiervan wil ik graag in het bijzonder bedanken.

In de eerste plaats alle deelnemers aan mijn experimenten, vrijwillig in het AMC of onvrijwillig in het CDP. Zonder de waardevolle informatie die deze experimenten hebben opgeleverd had dit proefschrift niet bestaan. Mijn dank is groot!

Prof. dr. A.K. Groen, beste Bert, bedankt voor je toegankelijkheid, grote kennis van zaken en eerlijke kritiek. Bedank voor de ruimte en het vertrouwen die je me gaf om mijn eigen weg te banen. In de eerste plaats om mijn eigen MD/PhD-aanvraag te schrijven en de verschillende onderzoeksprojecten op te zetten, maar ook *along the way*. Ik bleek een aantal 'hot topics' te hebben gekozen om aan te werken, waardoor het soms een race tegen de klok leek om niet geschoopt te worden, wij pittige reviewers tegenkwamen en vriend soms vijand leek. Veel dank voor je inspiratie en begeleiding, en bovenal ook voor de persoonlijke interesse die jij toonde.

Prof. dr. H.J. Verkade, beste Henkjan, dank voor jouw optimisme en kritische blik. Ik kijk met veel plezier terug op onze meetings. De discussies liepen soms hoog op, maar jij wist de boel altijd te structureren, liefst met whiteboard of flipover. Jij probeerde altijd de kern van het 'probleem' te definiëren en de verschillende uitkomstmogelijkheden te rangschikken. Achteraf hadden we vaak meer nieuwe vragen dan antwoorden, maar dit gaf mij steeds weer frisse energie om nieuwe hypotheses en experimenten op te zetten.

Prof. dr. F. Kuipers, beste Folkert, vanaf de zijlijn was jij betrokken bij mijn projecten. Ik heb je input, nuchterheid, heldere visie en beslisvaardigheid altijd erg op prijs gesteld.

Ook jouw commentaren op mijn manuscripten – hoeveel moeite het mij soms ook kostte om jouw spijkerschrift te ontcijferen – waren altijd zeer waardevol!

Beste Jurre, *I wouldn't be here, if it wasn't for you (Simple Plan)*. En dat meen ik! Jij nam mij als Geneeskunde student – die nog niet eens wist hoe je een pipet moest vasthouden – mee aan de hand door de wereld van de wetenschap. In korte tijd leerde ik een heleboel skills, technieken en theorie van je. Maar het meest aanstekelijk was jouw enthousiasme voor het onderzoek en jouw onmetelijke nieuwsgierigheid naar allerlei onderwerpen (ook buiten de wetenschap). Jij liet mij zien hoe leuk wetenschap kon zijn, en gaf mij het vertrouwen dat ik een MD/PhD-traject in zo'n basaal onderzoeksveld aan zou kunnen. Ik had mij geen betere start in de wetenschap kunnen wensen. De studenten op het HLO mogen in hun handen knijpen met een docent zoals jij!

Graag wil ik alle leden van de leescommissie bedanken, prof. dr. Barbara Bakker, prof. dr. Ulrich Beuers en prof. dr. Bart Staels, voor het beoordelen van mijn proefschrift en de bereidheid om plaats te nemen in de oppositie tijdens de openbare verdediging.

In het laboratorium heb ik hulp van veel zeer bekwame analisten mogen ontvangen. Jullie zijn de harde kern van het lab! Zonder jullie hulp zou ik als Geneeskunde student snel bewusteloos zijn geweest door chloroform buiten de zuurkast, bevroren door de  $-80^{\circ}\text{C}$  zonder handschoenen, onthoofd door rondvliegende glasscherven van een vloeibaar stikstofvat zonder een beschermingsmasker te dragen, of ontploft door te snel acetylchloride bij methanol te gieten. Zonder gekkigheid; het was een voorrecht om van al jullie kennis en skills gebruik te mogen maken.

Beste Trijnie, wat een ongelofelijke luxe was het dat jij mij een deel van het labwerk uit handen hebt genomen! Het was fijn en gezellig om met je samen te werken, dank voor al je hulp!

Beste Henk, met veel plezier heb ik een labtafel met je gedeeld. Soms zaten we lijdzaam naast elkaar, neuriede jij zachtjes *'she's a shitseeker, shitseeker'*, of voerden we gezamenlijk een experiment uit met 2 groepen van  $n=1$ , naar het effect van wel of geen Berenburg drinken op het beloop van een hevige herfstverkoudheid. Je wijze citaten zal ik niet vergeten, zoals: *'The proof of the pudding is in the eating'*, wanneer we weer

een nieuwe antibody tegen Fgf15 uitprobeerden voor Western Blot. Veel dank voor al je goede input, ideeën en hulp bij mijn experimenten.

Beste Renze, eindeloos vaak kwam ik aan jouw labtafel het Seppack protocol voor galzoutanalyse volgen. Je was altijd bereid om mee te denken over de methode en resultaten. Onze leuke gesprekken over sport en reizen maakten dat het Seppack protocol nooit saai werd om te doen. Veel dank voor je hulp met o.a. de vele GC samples.

Beste Rick, bedankt voor al je hulp bij de talloze galcannulaties, lymfecannulaties, hepatocyten isolaties en andere experimenten die waardevolle data opleverden voor dit proefschrift. Ik vond het heel fijn dat jij samen met Anke (ook veel dank!) mijn geplande experiment in Hannover hebt uitgevoerd toen ik plotseling in het ziekenhuis opgenomen werd.

Beste Aycha, ik bewonder de vrolijkheid en het optimisme waarmee jij door het lab loopt! Altijd was je bereikbaar voor vragen, hulp in het radioactieve lab of de celkweek, en natuurlijk voor wat gezelligheid. Bedankt!

Beste Theo, ik ben blij dat jij zo goed bent in Wiskunde en Excel, want mij hebben al die kinetiek formules heel wat hoofdbrekens bezorgd om ze te begrijpen. Veel dank voor je hulp bij mijn experimenten, het interpreteren van data en de soms hevige maar uiterst nuttige discussies tijdens de FXR en transport meetings.

Beste Vincent, heel fijn dat jij zo bovenop de literatuur zit, zo hoef je als drukke PhD student nooit een interessant artikel te missen. Ook je hulp bij het interpreteren van onze (en andere) microarrays heb ik erg gewaardeerd.

Beste Angelika en Juul, bedankt voor het genotyperen van mijn talloze muizennestjes, hulp bij dierproeven, foklijnen en histologie. Juul, zonder jouw hulp hadden er nooit zulke mooie leverplaatjes in hoofdstuk 4 gestaan!

Alle mensen van het dierenlab: bedankt voor al jullie hulp met het verzorgen van de dieren, in goede banen leiden van de fok, hulp bij experimenten en zorg voor alles rondom de proefdieren.

Lieve dames van de chickies room: Marije, Gemma, Marleen, Anke, Brenda en Marcella. Heel veel dank voor alle steun, hulp bij experimenten, adviezen, kletspraatjes, discussies, afleiding, kopjes koffie, support, feedback, stoom afblazen en bovenal gezelligheid. Mijn dank is groot, *you guys rock!*

Special thanks go to all my co-authors, in particular Jay Patankar, Michal Pawlak, Anne Vrieze and Max Nieuwdorp. Thanks for all your hard work and valuable input in our papers.

Daarnaast wil ik graag alle andere collega's van het lab Kindergeneeskunde en MDL bedanken voor de samenwerking, hulp bij experimenten, ideeën en leuke labdagen: Sanna, Gijs, Niels, Albert, Tim, Weilin, Hans, Dirk-Jan, Frans, Janine, Maaïke, Jan-Freark, Arne, Wytske, Margot, Maurien, Karin, Andrea, Willemien, Mariette, Hilde, Annelies, Marijke, Marjan, Torsten, Uwe, Manon, Tjasso, Otto, Pim, Elles, Theo, Claude, Martijn, Fjodor, Tineke, Gea, Hilde, Dolf en anderen die ik nu vergeet te noemen.

Mijn coaches gedurende de klinische fase van het MD/PhD-traject, drs. Nootboom, drs. Meijer en drs. ten Berg, wil ik graag bedanken voor hun interesse in mijn promotietraject en begrip voor de gesplitste persoon met dubbele agenda die je soms bent als MD/PhD-er. De coachgroepen tijdens M1 en M2 heb ik altijd als erg prettig ervaren om ervaringen te delen, als uitlaatklep en – zoals drs. Nootboom altijd zegt – om wat 'eelt op de ziel te krijgen!'

Lieve vrienden en vriendinnen, tijdens een PhD laat je op sociaal vlak wel eens een steekje vallen. Dank voor jullie begrip hiervoor en de interesse die jullie tonen in mijn bezigheden. Bij jullie kon ik altijd heerlijk ontspannen, mijn hoofd op andere zaken zetten en bovenal een hele hoop lol hebben. Dank voor alle gezelligheid, kopjes koffie of liters thee, ploma's, sportieve activiteiten (of aanmoedigingen!), etentjes, festivals, hulp na mijn operatie, stapavonden, vakanties en goede gesprekken. Jullie medeleven, steun en gezelligheid jullie doen mij beseffen wat de echte belangrijke zaken in het leven zijn. Nu het (bijna) klaar is kijk ik er enorm naar uit om alle gevallen steekjes driedubbel in te halen!

Lieve paranimfen, bedankt voor al jullie hulp tijdens mijn promotietraject en bij het organiseren van de grote dag! Lieve Anne Marijn, na het JSM traject stapten wij samen in het MD/PhD-avontuur. Ik vond het heel waardevol om samen, ware het op verschillende afdelingen, dit hele traject te doorlopen. De hoeveelheid vroege ochtenden, late avonden en weekenden op het (dieren)lab, zijn al lang niet meer op al onze vingers

en tenen te tellen. Maar na een appje 'koffie?' of 'personeelsrestaurant?' en de daarop volgende korte break van onze bezigheden, kon ik er altijd weer tegenaan. Gelukkig konden we ook als het even tegenzat nog dromen over promoveren op de allerhoogste rode pumps ;). Dank voor al je steun, hulp, adviezen, vriendschap en mooie fietstochtjes. Volgend jaar ben jij aan de beurt!

Lieve Marije, kamer- en lotgenoot! Hoe fijn was het om elkaar te kunnen vragen om 'de touwtjes aan de trekken' bij galcannulaties, die paar extra handen maakt de experimenten altijd efficiënt en gezellig. Ik bewonder hoe jij je niet de regels voor laat schrijven en altijd dicht bij jezelf weet te blijven. Jouw nuchtere kijk op de zaak hebben mij dikwijls geholpen om beslissingen te nemen. Ik heb erg genoten van onze tripjes naar Tutzing, FALK en (s)Keystone in Canada. *Keep up the good work*, je krijgt die bochten vanzelf onder controle!

Lieve papa, mama en zus(je). In goede en minder goede tijden, jullie steun was er altijd onvoorwaardelijk. Ondanks dat het voor jullie soms volstrekt onbegrijpelijk geweest moet zijn wat ik nou precies deed in dat lab, altijd hadden jullie interesse in mijn vorderingen ('hoe is het met de muizen?'). Ik ben blij en trots dat jullie er zijn, jullie zijn ontelbaar belangrijk.

Lieve Camiel, mijn leven is leuker sinds jij erbij bent. Alleen als jij jezelf door mijn ogen zou zien, zou je kunnen zien hoe speciaal je voor mij bent. Dank voor je support en liefde. *You make my heart smile :)*

*Music makes hard work a lot easier – thanks to Red Hot Chili Peppers, Go Back to The Zoo, Kensington and many others..*

*Liefs Caro*





## BIOGRAFIE

Carolien Out werd geboren in Zwolle op 5 april 1988. Na het behalen van haar VWO diploma aan de Thorbecke Scholengemeenschap te Zwolle in 2006, is ze begonnen aan de studie Geneeskunde aan de Rijksuniversiteit Groningen. Tijdens de bachelor volgde zij het Bachelor Honours-traject van de Junior Scientific Masterclass (JSM) Groningen, en behaalde in 2009 haar bachelor met 'Honours'. In hetzelfde jaar begon ze met de master Geneeskunde, met het onderdeel Wetenschappelijke Stage. Ze deed onderzoek in het Researchlaboratorium van de afdeling Kindergeneeskunde in het Universitair Medisch Centrum Groningen naar de rol van de transcriptiefactor Lrh1 in galzout- en vetmetabolisme, onder leiding van Jurre Hageman en prof. dr. Bert Groen. Er volgde een MD/PhD-traject van 4 jaar bij de Kindergeneeskunde onder begeleiding van prof. dr. Bert Groen en prof. dr. Henkjan Verkade. Een deel van de resultaten die behaald zijn tijdens dit onderzoek staat beschreven in dit proefschrift. Vanaf december 2014 tot en met mei 2015 zal Carolien het laatste onderdeel van haar master Geneeskunde volgen in de Isala Klinieken in Zwolle.

## BIOGRAPHY

Carolien Out was born on the 5th of April 1988 in Zwolle. In 2006 she graduated from high school (Thorbecke Scholengemeenschap) in Zwolle. In the same year, she started her bachelor in Medicine at the University of Groningen. During this period she followed the Junior Scientific Masterclass (JSM) Bachelor Honours program and obtained her bachelor with 'Honours' in 2009. She proceeded with her master in Medicine and started on a scientific internship. The role of the transcriptional factor Lrh1 in bile acid and lipid metabolism was studied at the Laboratory of Pediatrics at the University of Groningen under supervision of Jurre Hageman and prof. dr. Bert Groen. She continued in an MD/PhD program at the Laboratory of Pediatrics under supervision of prof. dr. Bert Groen and prof. dr. Henkjan Verkade. Part of the results obtained during this period are described in this thesis. From December 2014 until May 2015 Carolien will finish her master in Medicine at the Isala Hospital in Zwolle.



## LIST OF PUBLICATIONS

**Out C\***, Hageman J\*, Bloks VW, Gerrits H, Sollewijn Gelpke MD, Bos T, Havinga R, Smit MJ, Kuipers F, Groen AK. Liver receptor homolog-1 is critical for adequate up-regulation of Cyp7a1 gene transcription and bile salt synthesis during bile salt sequestration.

*\*Authors contributed equally*

*Hepatology* 2011 Jun;53(6):2075-85

**Out C**, Groen AK, Brufau G. Bile acid sequestrants: more than simple resins.

*Current Opinion in Lipidology* 2012 Feb;23(1):43-55

**Out C**, Kuipers F, Groen AK. Bile acids and cholestasis.

*Gastroenterology* 2013 Feb;144(2):e17-8

Vrieze A, **Out C**, Fuentes S, Jonker L, Reuling I, Kootte RS, van Nood E, Holleman F, Knaapen M, Romijn JA, Soeters MR, Blaak EE, Dallinga-Thie GM, Reijnders D, Ackermans MT, Serlie MJ, Knop FK, Holst JJ, van der Ley C, Kema IP, Zoetendal EG, de Vos WM, Hoekstra JB, Stroes ES, Groen AK, Nieuwdorp M. Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity.

*Journal of Hepatology* 2014 Apr;60(4):824-31

**Out C**, Dijkers A, Laskewitz A, Boverhof R, van der Ley C, Kema IP, Wolters H, Havinga R, Verkade HJ, Kuipers F, Tietge UJ, Groen AK. Prednisolone increases enterohepatic cycling of bile acids by induction of Asbt and promotes reverse cholesterol transport.

*Journal of Hepatology* 2014 Mar 26;61(2):351-357

**Out C**, Patankar JV, Boesjes M, Bos T, De Boer S, Havinga R, Wolters H, Boverhof R, Van Dijk TH, Smoczek A, Bleich A, Kratky D, Kuipers F, Verkade HJ and Groen AK. Gut microbiota inhibit ASBT-dependent intestinal bile acid reabsorption via GATA4.

*Provisionally accepted at Journal of Hepatology*

**Out C**, Pawlak M, Francque SM, Hageman J, Verrijken A, Lefebvre P, Prawitt J, Kruit J, Bos T, Wolters H, Havinga R, Bloks VW, Gerrits H, Sollewijn Gelpke MD, Smit MJ, Van Gaal L, Kuipers F, Staels B and Groen AK. LRH-1 plays a central role in hepatic triglyceride metabolism.

*In preparation*

