

Diabetes has become an increasingly important health problem, almost reaching epidemic proportions in the world. Type 1 diabetes results from the destruction of the insulin-producing beta-cells and finally insulin deficiency, whereas type 2 diabetes is characterized by a decreased sensitivity of the peripheral tissues for insulin. In order to develop new therapies, more insight into the mechanisms governing food intake, body weight and blood glucose regulation in healthy and diabetic conditions is indispensable.

Ghrelin, a hormone produced by the stomach, stimulates food intake by binding on its receptor in the hypothalamus, a brain centre involved in food intake regulation. Ghrelin fluctuates throughout the day, increasing before a meal and decreasing thereafter and determines in this way the timing of the meals. Ghrelin also stimulates gastric emptying, a process whereby food is emptied from the stomach into the duodenum. Recently there is also growing interest for its role in the regulation of glucose and insulin concentrations, which may have potential therapeutic implications for the treatment of diabetes. The general aim of this thesis was therefore to further establish the physiological functions of the ghrelin receptor and its closely related family member GPR39 in the regulation of food intake, blood glucose and gastric emptying in mouse models of diabetes.

In the first part of this thesis, a mouse model of type 1 diabetes was used, characterized by an increased food intake (hyperphagia), increased ghrelin concentrations and an altered gastric emptying. By using mice lacking the ghrelin receptor (GHS-R knockout mice) we wanted to investigate whether ghrelin may contribute to the increased food intake in this diabetic mouse model. Our data indicate that ghrelin is a major contributor to diabetic hyperphagia and that it acts through the stimulation of central pathways in the hypothalamus, rather than through peripheral pathways like changes in gastric emptying.

In the second part, we wanted to shed more light on the biochemical pathways in the hypothalamus, involved in the stimulatory effect of ghrelin on food intake. Recently the energy sensor AMPK, which senses nutrients and hormones, and its downstream effector, UCP2, have been shown to be implicated in the food intake stimulatory effect of administered ghrelin. By using ghrelin receptor knockout mice, we wanted to investigate whether a rise in endogenously produced ghrelin levels is able to influence hypothalamic AMPK activity and in this way the expression of the neuropeptides, NPY and AgRP, in the hypothalamus which stimulate food intake. Our studies indicate that increasing endogenous ghrelin levels by fasting or induction of type 1 diabetes stimulates the expression of AgRP and NPY via interaction with the ghrelin receptor. The changes in AMPK activity and UCP2 expression

occur independently from the ghrelin receptor suggesting that they do not play a major role in the pathway of endogenous ghrelin.

Another closely related member of the ghrelin receptor family is GPR39. It is an orphan receptor meaning that its natural hormone is still unknown. In the third part of this thesis we wanted to investigate the role of GPR39 in the regulation of food intake and glucose homeostasis during obesity-associated type 2 diabetes. We therefore placed normal mice and mice lacking GPR39 (GPR39 knockout mice) on a high fat diet (HFD) and followed them for 30 weeks. Our data showed that blood glucose levels were lower in GPR39 knockout mice than in normal mice in spite of the fact that they showed significant reductions in prandial plasma insulin levels. The latter was not due to changes in β -cell morphology but to alterations in insulin sensitivity. Our results suggest that GPR39 plays a role in the regulation of insulin and glucose concentrations during obesity related type 2 diabetes.

In conclusion, the results of the current thesis support the hypothesis that the ghrelin receptor family is an important player in the regulation of food intake and/or blood glucose during diabetes. Both the ghrelin receptor as well as the GPR39 should be considered as therapeutic targets for the treatment of diabetes.

Vulgariserende Samenvatting

Diabetes is een groeiend gezondheidsprobleem, dat epidemische proporties dreigt aan te nemen. Type 1 diabetes ontstaat ten gevolge van een defect in de insuline-producerende β -cellen, waardoor er een insulinetekort ontstaat. Type 2 diabetes daarentegen, wordt gekenmerkt door een verminderde insuline-sensitiviteit van de weefsels waardoor de glucose-opname wordt verstoord. Met het oog op aangepaste therapieën is meer inzicht vereist in de fysiologische mechanismen die voedselopname, lichaamsgewicht en bloedglucose reguleren, zowel in gezonde toestand als tijdens diabetes.

Ghreline, een hormoon dat geproduceerd wordt door de maag, stimuleert appetijt en voedselopname na binding op zijn receptor in het 'hongercentrum' in de hersenen, de hypothalamus. De ghrelineconcentraties in het bloed fluctueren doorheen de dag en stijgen vóór een maaltijd en dalen erna om het tijdstip van de maaltijd te reguleren. Ghreline stimuleert ook de maaglediging, een proces waarbij de maag wordt geledigd en het voedsel in het duodenum terechtkomt. Recent werd ook een rol voor ghreline gesuggereerd in de regulatie van de glucose en insulineconcentraties wat mogelijks kan leiden tot nieuwe therapieën voor diabetes. Het doel van deze thesis was dan ook om de fysiologische functie van de ghrelinereceptor en zijn sterk verwante GPR39 na te gaan in de regulatie van voedselopname, glucose en maaglediging in muismodellen van diabetes.

In het eerste deel van deze studie werd gebruik gemaakt van een muismodel voor type 1 diabetes, dat gekenmerkt wordt door een verhoogde voedselopname (hyperfagie), verhoogde ghrelineconcentraties en veranderingen in maaglediging. Door gebruik te maken van muizen die de ghrelinereceptor niet bezitten (ghrelinereceptor knockout muizen) werd de bijdrage van ghreline en zijn receptor onderzocht in de hyperfagie in dit muismodel. De resultaten van dit eerste deel geven aan dat ghreline in belangrijke mate bijdraagt tot de vastgestelde hyperfagie en dat dit voornamelijk gebeurt via signaalwegen in de hersenen, eerder dan via veranderingen in maaglediging.

In het tweede deel van deze thesis werden deze centrale signaalwegen van ghreline verder onderzocht. Recent werd aangetoond dat de energiesensor AMPK, die de aanwezigheid van nutriënten en hormonen kan waarnemen, en zijn onderliggende effector, UCP2, twee belangrijke spelers zijn in de signaalweg waarlangs toegediend ghreline voedselopname

stimuleert. Het doel van dit project was dan ook om met behulp van ghrelinreceptor knockout muizen, na te gaan of een stijging in lichaamseigen ghreline ook in staat is om AMPK activiteit te beïnvloeden en op die manier de expressie van de neuropeptiden, NPY en AgRP, in de hypothalamus die de voedselinname stimuleren. Onze studie toont aan dat een verhoging van de endogene ghrelineconcentraties door vasten of inductie van type 1 diabetes de expressie van NPY en AgRP stimuleert via interactie met de GHS-R maar dat de veranderingen in AMPK en UCP2 expressie onafhankelijk gebeuren van de ghrelinereceptor, wat laat vermoeden dat ze geen belangrijke rol spelen in de signaalweg van endogene ghreline.

Een nauw verwante receptor van de ghrelinereceptor is GPR39. Dit is een G-proteïne gekoppelde receptor waarvan het natuurlijk hormoon nog niet gekend is. In the derde deel van deze thesis werd de rol van deze receptor onderzocht in de regulatie van voedselopname en glucose homeostase tijdens type 2 diabetes geassocieerd met obesitas. Hiervoor werden normale en muizen zonder GPR39 op een vetrijk dieet geplaatst gedurende 30 weken. Op het vetrijke dieet vertoonden de muizen zonder GPR39 lagere glucose gehalten dan normale muizen alhoewel hun insulineconcentratie lager was. Dit laatste was niet te wijten aan veranderingen in de morfologie van de β -cellen in de pancreas maar aan een verlaagde gevoeligheid van de weefsels voor insuline. Onze data tonen aan dat GPR39 een rol speelt in de regulatie van insulinesecretie en insulinesensitiviteit tijdens obesitas-geassocieerde diabetes type 2.

De resultaten deze thesis ondersteunen de hypothese dat de ghreline receptor familie een belangrijke speler is in de regulatie van voedselopname en/of glucose tijdens diabetes. Zowel de ghreline receptor als GPR39 kunnen hiermee beschouwd worden als beloftevolle farmacologische doelwitten voor de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen in de strijd tegen diabetes.