

# Associatie tussen *HTR2C*-polymorfismen en gewichtsverlies bij patiënten met obesitas

Arne J. Risselada<sup>ab\*</sup>, Eibert R. Heerdink<sup>bc</sup>,  
Rob K. Goneru<sup>d</sup>, Toine C.G. Egberts<sup>bc</sup> en Hans Mulder<sup>ab</sup>

<sup>a</sup> Afdeling Klinische Farmacie, Wilhelmina Ziekenhuis Assen.

<sup>b</sup> Afdeling Farmaco-epidemiologie en Klinische Farmacologie, Departement Farmaceutische Wetenschappen, Universiteit Utrecht.

<sup>c</sup> Afdeling Klinische Farmacie, UMC Utrecht.

<sup>d</sup> Afdeling Interne geneeskunde, Wilhelmina Ziekenhuis Assen.

\* Correspondentie: arne.risselada@wza.nl.

Wij bedanken Gerina Bos en Inge van de Belt voor hun hulp bij het includeren van patiënten, en René Schutte en Elsbeth Nijhuis voor het uitvoeren van de genotyperingen.

Geen belangenverstrengeling gemeld.

Citeer als: Risselada AJ, Heerdink ER, Goneru RK, Egberts TCG, Mulder H. Associatie tussen *HTR2C*-polymorfismen en gewichtsverlies bij patiënten met obesitas. Nederlands Platform voor Farmaceutisch Onderzoek. 2018;3:a1662.

## Kernpunten

- Patiënten die het *HTR2C* 759 T-allel dragen verliezen minder gewicht in de eerste maand van het obesitas-programma.
- Patiënten die het *HTR2C* 759 T-allel dragen stoppen sneller met het negen maanden durende obesitas-programma.
- Testen op genetische variatie in *HTR2C* heeft op dit moment klinisch geen meerwaarde.

## Inleiding

Obesitas is een belangrijk probleem in onze huidige maatschappij dat onder andere in verband gebracht wordt met een verhoogd risico op cardio- en cerebrovasculaire problemen, type 2 diabetes, slaapapneu en sommige vormen van kanker [1,2]. Daarnaast kan obesitas ook psychosociale gevolgen hebben, aangezien obesitas het zelfbeeld en sociaal functioneren negatief kan beïnvloeden. Er is sprake van obesitas bij een *body mass index* (BMI)  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>. De afgelopen decennia is de prevalentie van obesitas sterk toegenomen [3].

## ABSTRACT

*Association between HTR2C polymorphisms and weight loss in obese patients*

### OBJECTIVE

To investigate whether the *HTR2C* rs1414334 and 759 C/T polymorphisms are associated with weight loss in an anti-obesity programme.

### DESIGN AND METHODS

A longitudinal observational follow-up study was used to assess the association between *HTR2C* genotypes and weight loss during a nine month programme in an obesity clinic. Caucasian patients aged 18 years or older were included. Data were extracted from the patients' medical records. In total, 128 patients were included (29 males).

### RESULTS

There was a significant association between the *HTR2C* 759 T allele and resistance to weight loss in the first month of the programme. For each T allele present, there was 0.78% [95% confidence interval [95%-CI] 0.19-1.38; P = 0.01] less weight loss (as a percentage of the body weight at start). Patients carrying the variant *HTR2C* 759 T allele were also less likely to reach > 7% weight loss (odds ratio [OR] 0.23; 95%-CI 0.06-0.85; P = 0.028), and dropped out of the programme sooner (-0.78 months; 95%-CI -1.51- -0.06; P = 0.035; corrected for gender). No associations with the *HTR2C* rs1414334-genotype and any of the primary endpoints for weight loss or secondary endpoints were found.

### CONCLUSION

Patients carrying the *HTR2C* 759 T allele were more resistant to weight loss and dropped out of the programme sooner. However, these effects were small and only explained a small part of a very complex puzzle. Genotyping *HTR2C* to predict a patient's chance of success in an obesity clinic is therefore not warranted.

Veranderingen in eetgedrag, waaronder een mondiale verschuiving in dieet richting een verhoogde inname van energierijk voedsel, is een belangrijke reden voor deze toename.

De stijgende prevalentie van obesitas heeft geleid tot het oprichten van obesitasklinieken om dit probleem het

hoofd te bieden en mensen te helpen gewicht te verliezen. Helaas is de behandeling binnen deze klinieken niet altijd succesvol. Sommige mensen zijn beter in staat om gewicht te verliezen tijdens zo'n obesitasprogramma dan anderen, mogelijk omdat ze beter in staat zijn hun eetgedrag aan te passen.

Verscheidende studies hebben aangetoond dat de serotonerge 5HT<sub>2c</sub>-receptor een belangrijke rol zou kunnen spelen in de beïnvloeding van eetgedrag, omdat muizen die het gen dat codeert voor de 5HT<sub>2c</sub>-receptor (*HTR2C*) niet bij zich droegen langer bleven eten en obeer werden. Daarnaast verminderen 5HT<sub>2c</sub>-agonisten de eetlust bij mensen [4,5]. Om die reden worden selectieve 5HT<sub>2c</sub>-agonistische geneesmiddelen op dit moment ontwikkeld en getest als afslankpillen in obese patiënten [6].

De studie van Pooley et al. toonde aan dat gewichtsverlies tijdens een obesitasprogramma beïnvloed werd door het 759 CT-polymorfisme (rs3813929) in het *HTR2C*-gen dat codeert voor de 5HT<sub>2c</sub>-receptor [7]. Patiënten met het *HTR2C* 759 C/T-genotype verloren minder gewicht tijdens het programma dan patiënten met het *HTR2C* 759 C/C- of T/T-genotype [7]. Daarnaast bleek de prevalentie van het variante *HTR2C* 759 T-allel of 759 T/T-genotype lager te zijn in patiënten met obesitas in respectievelijk de studies van Yuan et al. en Risselada et al. en werd het geassocieerd met minder antipsychotica-geïnduceerde gewichtstoename bij psychiatrische patiënten in twee meta-analyses [8-11]. Onze onderzoeksgroep vond ook een associatie tussen het *HTR2C* rs1414334-polymorfisme en obesitas bij patiënten met schizofrenie, waarbij patiënten die het variante rs1414334 C-allel droegen een groter risico hadden op obesitas [12]. Het doel van deze studie was om te onderzoeken of de *HTR2C* 759 C/T- en rs1414334-polymorfismen het gewichtsverlies beïnvloedden van patiënten die in onze obesitaskliniek behandeld werden.

## Methoden

### Setting

Inclusie van patiënten vond plaats tussen juli 2008 en januari 2013 in de obesitaskliniek die verbonden is aan het Wilhelmina Ziekenhuis in Assen. In deze obesitaskliniek werd een programma met een duur van negen maanden aangeboden aan patiënten met obesitas, waarin ze zorgvuldig gevolgd en behandeld werden door een team bestaande uit een internist-endocrinoloog, psycholoog, fysiotherapeut, diëtisten en verpleegkundigen. Beweging en aangepaste voeding, waaronder een hypocalorisch dieet, waren de hoekstenen van het programma. Het onderzoeksprotocol werd getoetst en goedgekeurd door de METC van Stichting BEBO in Assen.

### Studieopzet en patiënten

Er was sprake van een longitudinale observationele follow-up studie om de associatie tussen *HTR2C*-genotypen en gewichtsverlies te onderzoeken. Twaalf patiënten werden

retrospectief geïncludeerd (data van 2006-2008) en de rest prospectief (n = 116 [91%]). De benodigde data werden geëxtraheerd uit de (elektronische) medische dossiers. Van een aantal patiënten zijn de aanvangsgegevens ook gebruikt voor twee dwarsdoorsnedestudies [9,13].

Patiënten kwamen in aanmerking voor inclusie in deze studie wanneer ze deelnamen aan het programma van de obesitaskliniek, 18 jaar of ouder waren en kaukasisch. Patiënten die antipsychotica of antidepressiva gebruikten op het moment van inclusie werden geëxcludeerd. Na een volledige uitleg over de studie aan de patiënten werd schriftelijke toestemming voor deelname verkregen en bloed afgenomen ten behoeve van de genotypering.

### Uitkomsten

De primaire uitkomstmaten van deze studie waren: veranderingen in lichaamsgewicht gedurende het obesitasprogramma; gewichtsverlies per maand, gewichtsverlies aan het eind van de follow-up (laatst gemeten waarde), en > 7% gewichtsverlies (aangezien > 7% gewichtstoename door de *Food and Drug Administration* als klinisch significant wordt beschouwd [14]). Gewichtsverlies werd weergegeven als percentage van het oorspronkelijke lichaamsgewicht bij start van het programma ( $t = 0$ ). De secundaire uitkomstmaat was therapietrouw, gemeten in maanden volbrachte follow-up van het negen maanden durende programma.

### Determinanten

Primaire determinanten waren de genotypen van de rs3813929:C>T(-759 C/T)- en rs1414334:C>G-polymorfismen in het X-chromosomaal gelegen *HTR2C*-gen. Het rs1414334 C-allel en het 759 T-allel werden beschouwd als variante allelen.

### DNA-isolatie en genotypering

Het DNA werd vanuit EDTA-bloed geïsoleerd door middel van X-tractor Gene (Corbett Life Science, Westburg, Leusden) met X-tractor Gene Liquid Sample Reagent Pack (XTR1, Sigma-Aldrich, Westburg, Leusden). De genotypen van de rs3813929 C/T- en rs1414334 C/G-polymorfismen werden bepaald met behulp van alleldiscriminatie, gebruikmakend van reeds ontwikkelde testen volgens een gevalideerd protocol (C\_27488117\_10 en C\_7455701\_10 respectievelijk, Applied Biosystems, Nieuwerkerk a/d IJssel). De reactie werd uitgevoerd met de TaqMan universele PCR mastermix (Applied Biosystems) in een StepOne Plus PCR.

### Data-analyse en statistiek

De associaties tussen veranderingen in lichaamsgewicht en *HTR2C*-genotypen of dragerschap van de variante allelen werden onderzocht met lineaire regressie (gewichtsverlies/maand, en gewichtsverlies aan het einde van de follow-up periode) en logistische regressie (> 7% gewichtsverlies).

**Tabel 1**    **Patiëntkarakteristieken bij aanvang van het obesitasprogramma**

Karakteristiek	Populatie (N = 128)
Leeftijd, mediaan (SD)	
• vrouwen	43,8 (11,6)
• mannen	45,3 (11,0)
BMI, mediaan (SD)	
• vrouwen	41,0 (6,3) kg/m <sup>2</sup>
• mannen	42,3 (8,4) kg/m <sup>2</sup>
Lichaamsgewicht, mediaan (SD)	
• vrouwen	118,4 (20,7) kg
• mannen	139,7 (31,6) kg

BMI: *body mass index*; SD: standaarddeviatie.

De invloed van de volgende mogelijke *confounders* werd onderzocht: leeftijd, geslacht, BMI bij de start van het programma en de duur van het hypocalorische dieet (Modifast). *Confounders* werden geïncorporeerd in het multivariate model als ze univariaat geassocieerd waren met de primaire uitkomstmaten op een significantieniveau van  $P < 0,20$  [15]. Er werd ook onderzocht of er sprake was van een interactie tussen genotype en geslacht, aangezien het *HTR2C*-gen op het X-chromosoom ligt. Een *P*-waarde kleiner dan 0,05 werd beschouwd als significant voor de primaire analyses, omdat er sprake was van een hypothesegebreven studie en het verlagen van de benodigde *P*-waarde op basis van het aantal analyses de kans op een type II-fout te sterk zou kunnen vergroten [16]. Voor dit onderzoek is geen separate poweranalyse uitgevoerd. De data werd geanalyseerd met SPSS 20.0.

## Resultaten

In totaal werden 128 patiënten geïncorporeerd, waarvan 29 mannen en 99 vrouwen. De patiëntkarakteristieken bij aanvang van het obesitasprogramma worden weergegeven in tabel 1. De prevalentie van het variante *HTR2C* 759T-allel ( $n = 41$ ) was 32% en 25% voor het variante *HTR2C* rs1414334C-allel ( $n = 32$ ). De verdeling van de genotypen week niet significant af van het Hardy-Weinbergequilibrium berekend in vrouwen voor *HTR2C*-polymorfismen rs3813929 (-759 C/T;  $P = 0,68$ ) en rs1414334:C>G ( $P = 1,00$ ). Er werd geen significant *linkage* disequilibrium gevonden tussen de polymorfismen ( $R^2 < 0,01$ ), en er was geen sprake van een interactie tussen het genotype van de *HTR2C*-polymorfismen en geslacht. Geslacht, leeftijd en BMI bij de start van het programma werden geïncorporeerd als *confounders* voor gewichtsverlies. Het gewichtsverlies gedurende het negen maanden durende programma wordt getoond in de figuren 1 en 2.

Bij analyse van de data werd alleen een significante associatie gevonden tussen het *HTR2C* 759 C/T-genotype en

gewichtsverlies in de eerste maand van het programma. De volgende formule verklaarde daarbij 10% van de variantie:

$$GV = -10,7\% + 0,78T - 0,014L + 0,80S + 0,05BMI_{t=0}$$

waarin *GV* = gewichtsverlies tijdens de eerste maand als percentage van lichaamsgewicht; *T* = aantal T-allelen, waarbij een man met het T-allel telt als 2; *L* = leeftijd; *S* = geslacht: man = 0, vrouw = 1.

(regressiecoëfficiënt [*B*] = 0,78; 95% betrouwbaarheidsinterval [95%-*BI*] 0,19-1,38;  $P = 0,01$ )

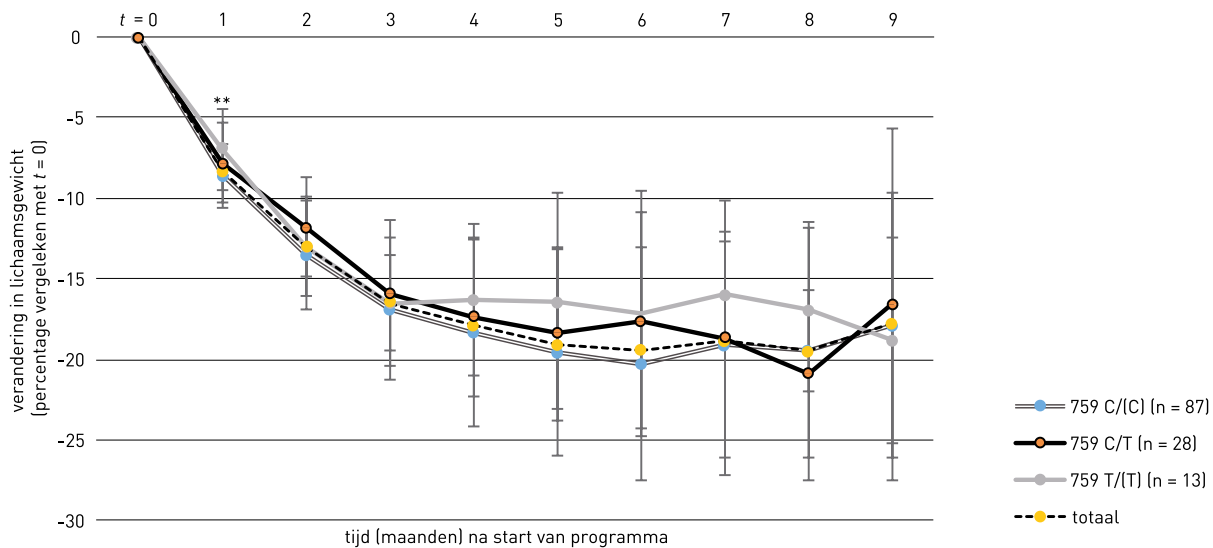
De analyse bleef significant wanneer naar dragerschap van het variante 759 T-allel gekeken werd als determinant voor gewichtsverlies ( $B = 0,94$ ; 95%-*BI* 0,1-1,8;  $P = 0,03$ ). Na 5 en 6 maanden was er een trend voor een associatie tussen gewichtsverlies en het *HTR2C* 759 C/T-genotype ( $B = 1,94$ ; 95%-*BI* -0,23-4,10;  $P = 0,08$  en  $B = 2,12$ ; 95%-*BI* -0,42-4,67;  $P = 0,10$  respectievelijk). Wanneer naar gewichtsverlies aan het einde van de follow-upperiode gekeken werd (laatst bekende meting) werd er een trend gevonden voor een associatie tussen het *HTR2C* 759 C/T-genotype na correctie voor leeftijd, geslacht en BMI op  $t = 0$  ( $B = 1,88$ ; 95%-*CI* -0,27-4,04;  $P = 0,086$ ).

Tot slot hadden patiënten die het variante *HTR2C* 759 T-allel droegen ook minder kans om > 7% gewichtsverlies te bereiken (*odds ratio* 0,23; 95%-*BI* 0,06-0,85;  $P = 0,028$ ), en stopten ze eerder met het programma (-0,78 maanden; 95%-*BI* -1,51- -0,06;  $P = 0,035$ ; gecorrigeerd voor geslacht). Met het *HTR2C*-genotype als determinant bedroeg het aantal maanden follow-up 7,31 maanden - 0,56 (95%-*BI* -1,07- -0,05;  $P = 0,03$ ) × (aantal T-allelen (een man met een T-allel telt als 2)) + 0,53 × (geslacht; man = 0, vrouw = 1). Hiermee werd 5,4% van de variantie verklaard. Er werden geen associaties gevonden tussen het *HTR2C* rs1414334-genotype en de primaire of secundaire eindpunten (data niet getoond).

## Beschouwing

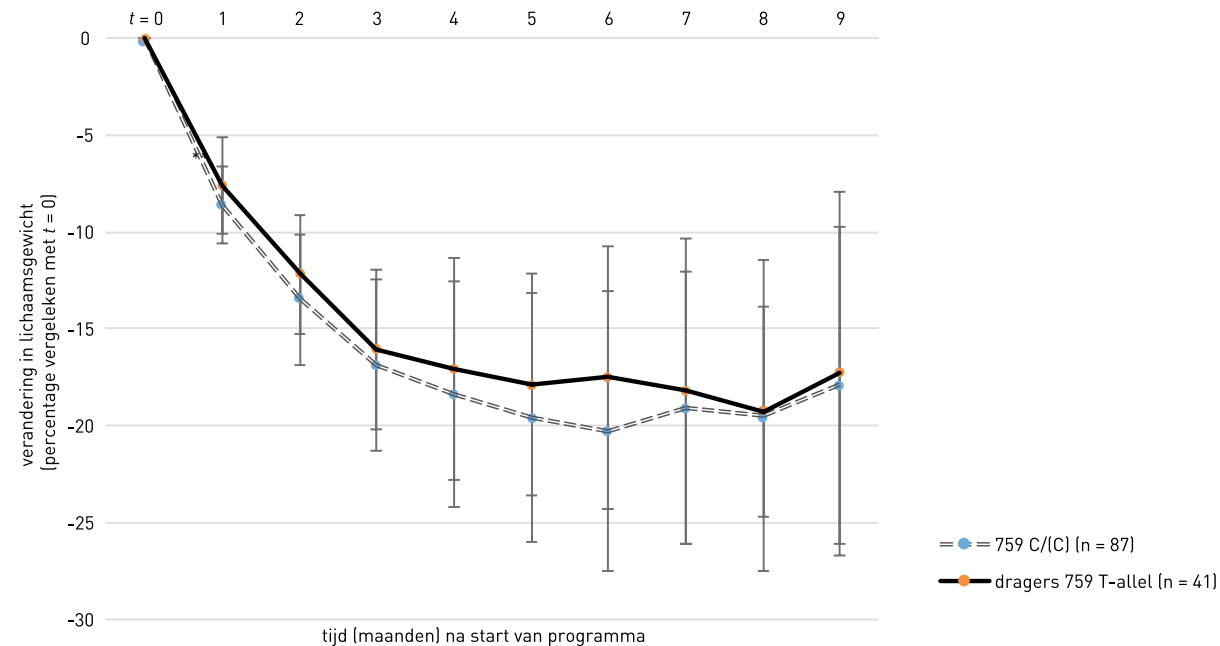
Net als in de studie van Pooley et al. werd een associatie gevonden tussen het *HTR2C* 759 C/T-genotype en gewichtsverlies tijdens een obesitasprogramma [7]. Patiënten die het variante 759 T-allel droegen bereikten minder gewichtsverlies in de eerste maand en stopten sneller met het programma dan patiënten met het 759 CC-genotype.

Op het eerste gezicht lijken deze resultaten, waarin dragerschap van het *HTR2C* 759 T-allel een negatieve invloed had op gewichtsverlies en dus als metabool ongunstig kan worden aangemerkt, tegenstrijdig met studies waarin het *HTR2C* 759 T-allel beschermend was tegen antipsychotica-geïnduceerde gewichtstoename of minder prevalent was bij patiënten met obesitas en dragerschap en dus beschouwd werd als metabool gunstig [8,9]. Wij denken echter dat deze resultaten toch op elkaar aan zouden kunnen sluiten. Immers, als patiënten die het *HTR2C* 759 T-allel dragen enigszins beschermd zijn tegen het ontstaan van obesitas, dan is de kans dat deze patiënten zich uiteindelijk tot een obesitaskliniek moeten wenden lager. Als een

**Figuur 1** Gewichtsverlies gedurende het obesitasprogramma in de *HTR2C* 759 C/T-genotypegroepen

\*\* P = 0.01.

t = 0: start van obesitasprogramma.

**Figuur 2** Gewichtsverlies gedurende het obesitasprogramma in dragers van het variante *HTR2C* 759-T allel vergeleken met het *HTR2C* 759 C/C-genotype

\*\* P = 0,03.

t = 0: start van obesitasprogramma.

patiënt die het *HTR2C* 759 T-allel draagt uiteindelijk wel obees wordt, dan zouden de oorzaken die ten grondslag liggen aan het ontstaan van obesitas bij die patiënt wellicht

resistenter kunnen zijn tegen behandeling, aangezien dragerschap van het *HTR2C* 759 T-allel kennelijk niet beschermend genoeg is geweest. Misschien is dit ook de reden dat

in de studie van Pooley et al. een negatieve invloed van het *HTR2C* 759 C/T-genotype op gewichtsverlies gevonden werd [7]. Het is echter vreemd dat in die studie geen negatieve invloed van het *HTR2C* 759 T/T-genotype op gewichtsverlies gezien werd, maar dat werd waarschijnlijk veroorzaakt door het geringe aantal patiënten met dat genotype ( $n = 8$ ). Dat in dit onderzoek geen associatie gevonden werd tussen het *HTR2C* rs1414334-polymorfisme en gewichtsverlies is weinig verrassend, omdat dit polymorfisme maar zelden geassocieerd wordt met gewichtstoename of obesitas [9,17].

Deze studie kent ook een aantal beperkingen. Hoewel het aantal patiënten in deze studie groter was dan in de studie van Pooley et al., is nog steeds sprake van kleine genotypegroepen. Het besluit van de zorgverzekeraars om de behandeling in de obesitaskliniek in veel gevallen niet langer te vergoeden heeft tot een drastische vermindering van het aantal patiënten geleid. Dit heeft er mogelijk mede toe geleid dat alleen de verschillen in de eerste maand statistisch significant waren, aangezien dragers van het 759 T-allel ook eerder stopten met het programma en het aantal te analyseren patiënten per maand afnam, waardoor de standaarddeviatie toenam. Er zijn daarom meer replicatiestudies nodig om onze resultaten te bevestigen en het bewijs te versterken dat het *HTR2C* 759 C/T-polymorfisme relevant is voor gewichtsverlies in een obesitaskliniek. Dat zou van belang kunnen zijn voor toekomstige behandelingen, omdat op die manier genetische informatie gebruikt zou kunnen worden om patiënten te identificeren die mogelijk minder baat hebben bij zo'n programma, of een andere aanpak of meer begeleiding nodig hebben dan anderen.

Er zijn echter veel factoren die bepalen of iemand succesvol een dergelijk obesitasprogramma zal doorlopen. Genetische informatie is er daar maar één van [18]. Het *HTR2C* 759 C/T-genotype zou één van de puzzelstukjes kunnen zijn in een complexe puzzel, die bestaat uit meerdere genetische factoren en omgevingsfactoren. De invloed van alleen het *HTR2C* 759 C/T-genotype op de uitkomst zal klein zijn, zoals ook uit de resultaten van deze studie is gebleken. Het testen op genetische variatie in *HTR2C* heeft daarom op dit moment geen klinische meerwaarde bij het inschatten van iemands slagingskans bij deelname aan een afslankprogramma in een obesitaskliniek. ■

## Literatuur

- Field AE, Coakley EH, Must A, et al. Impact of overweight on the risk of developing common chronic diseases during a 10-year period. *Arch Intern Med.* 2001;161:1581-1586.
- Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH. The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA.* 1999;282:1523-1529.
- Blokstra A, Vissink P, Venmans LMAJ, et al. Nederland de Maat Genomen, 2009-2010: Monitoring van risicofactoren in de algemene bevolking. Bilthoven: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM); 2011. RIVM rapport 260152001.
- Tecott L, Sun L, Akana SF, et al. Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5HT2C-serotonin receptors. *Nature.* 1995; 374:542-546.
- Gallant DM, Bishop MP, Bishop G, O'Meallie L. U-22,394A: a controlled evaluation in chronic schizophrenic patients. *Curr Ther Res Clin Exp.* 1976; 9:579-581.
- Smith SR, Prosser WA, Donahue DJ, et al. Lorcaserin (APD356), a selective 5-HT2c agonist, reduces body weight in obese men and women. *Obesity.* 2008; 17:494-503.
- Pooley EC, Fairburg CG, Cooper Z, Sodhi MS, Cowen PJ, Harrison PJ. A 5-HT2c receptor promoter polymorphism (HTR2C-759C/T is associated with obesity in women, and with resistance to weight loss in heterozygotes. *Am J Medical Genetics Part B (Neuropsych.Gen).* 2004;126B:124-127.
- Yuan X, Yamada K, Ishiyama-Shigemoto S, Koyama W, Nonaka K. Identification of polymorphic loci in the promoter region of the serotonin 5HT2C receptor gene and their association with obesity and type II diabetes. *Diabetologia.* 2000;43:373-376.
- Risselada AJ, Mulder H, Heerdink ER, Gonera RK, Egberts ACG. Association between HTR2C polymorphisms and obesity in patients without antipsychotic drugs. *J Clin Psychopharmacol.* 2012;32: 715-740.
- De Luca V, Mueller DJ, de Bartolomeis A. Association of the HTR2C gene and antipsychotic-induced weight gain: a meta-analysis. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2007;10:697-704.
- Sicard MN, Zai CC, Tiwari AK, et al. Polymorphisms of the HTR2C gene and antipsychotic-induced weight gain: an update and meta-analysis. *Pharmacogenomics.* 2010;11:1561-1571.
- Mulder H, Franke B, van der Beek-van der A, et al. The association between HTR2C polymorphisms and obesity in psychiatric patients using antipsychotics: a cross-sectional study. *Pharmacogenomics J.* 2007;7:318-24.
- Risselada AJ, Mulder H, Heerdink ER, Gregoor JG, Gonera RK, Egberts TC. Combined HTR2C-LEP and HTR2C-LEPR genotypes as a determinant for obesity in patients without antipsychotic drugs. *J Clin Psychopharmacol.* 2014 Apr;34(2):266-268.
- Nihalani N, Schwartz TL, Siddiqui UA, Megna JL. Weight gain, obesity, and psychotropic prescribing. *J Obesity.* 2011; 2011: 893629.
- Maldonado G, Greenland S. Simulation study of confounder-selection strategies. *Am J Epidemiology.* 1993;138:923-936.
- Perneger TV. What's wrong with Bonferroni adjustments. *BMJ.* 1998;316:1236-1238.
- Risselada AJ, Mulder H, Heerdink ER, Egberts TC. Pharmacogenetic testing to predict antipsychotic-induced weight gain: a systematic review. *Pharmacogenomics.* 2011;12:1213-1227.
- Bray MS, Loos RJF, McCaffery JM, et al. NIH working group report-using genomic information to guide weight management: from universal to precision treatment. *Obesity.* 2016; 24:14-22.