

Cold cure for type 2 diabetes

Citation for published version (APA):

Hanssen, M. J. W. (2016). *Cold cure for type 2 diabetes: Role of brown adipose tissue and skeletal muscle in glucose metabolism*. Uitgeverij BOXPress. <https://doi.org/10.26481/dis.20160923mh>

Document status and date:

Published: 01/01/2016

DOI:

[10.26481/dis.20160923mh](https://doi.org/10.26481/dis.20160923mh)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

The number of people suffering from overweight and obesity has increased rapidly in recent decades. Importantly, the high obesity prevalence is the main cause for a dramatically increased incidence of type 2 diabetes. Type 2 diabetes is generally caused by reduced sensitivity to the hormone insulin (i.e. insulin resistance), and is characterized by elevated blood glucose levels. The health impact of diabetes is substantial, and it is a major risk factor for the development other comorbidities, especially cardiovascular complications. Lifestyle interventions with diet and exercise have been proven to be very successful to reduce type 2 diabetes risk, but translating these interventions to the general public remains very challenging. Therefore, other strategies need to be explored. Brown adipose tissue (BAT) is an attractive target in this respect. BAT has the unique capacity to dissipate energy from glucose and fat oxidation as heat. This heat generating capacity of BAT becomes particularly apparent when individuals are exposed to cold, when BAT thermogenesis is activated to help maintain a constant core body temperature. The extra energy that is expended this way is known as non-shivering thermogenesis (NST), and contributes to increased whole-body energy expenditure. This may be very beneficial to combat obesity: when energy intake remains constant, while energy expenditure is increased, a negative energy balance is created, and hence weight is lost. In addition, when BAT is activated, this tissue utilizes large amounts of glucose for its heat production, which leads to enhanced glucose clearance from the circulation. This may be especially beneficial in a diabetic situation, characterized by elevated blood glucose levels. Therefore, in this thesis we explored the role of human BAT in the pathophysiology and treatment of type 2 diabetes.

In patients with type 2 diabetes, insulin resistance may hamper the capacity of BAT to take up glucose upon cold exposure. However, most type 2 diabetes patients are also either of high age or obese, and both of these factors had already been associated with reduced glucose uptake capacity in BAT in previous studies. Therefore, to study the effects of insulin resistance on BAT's glucose uptake capacity, we employed a prolonged-fasting (54h) model in young, healthy individuals (**chapter 2**); Prolonged fasting is known to induce insulin resistance in peripheral tissues, such as BAT, in order to spare glucose for the brain. As such, we showed that fasting-induced insulin resistance markedly reduced cold-induced glucose uptake in BAT, as assessed by [^{18}F]FDG-PET/CT scanning. This was also paralleled by reduced non-shivering thermogenesis. Interestingly, molecular

imaging and modeling revealed that the reduction in glucose uptake into BAT was due to decreased cellular glucose uptake in BAT, and not due to decreased glucose supply (in the face of slightly lower blood glucose levels upon fasting). It might be expected that in other insulin resistant conditions, such as type 2 diabetes, cold-stimulated glucose uptake in BAT is impaired as well.

If BAT activity is indeed impaired in type 2 diabetes, increasing its presence and activity may result in improved metabolic health, due to greater glucose clearance capacity by BAT. In a previous study in young, healthy individuals, our research group had shown that BAT depots can be expanded by means of prolonged intermittent (10 days, 6 h/day) exposure to mild cold temperatures (16 °C; i.e. cold acclimation). In order to investigate whether BAT can also be recruited in type 2 diabetes patients, and whether this would subsequently lead to improved glucose clearance, we employed a similar cold acclimation protocol in these patients (**chapter 3**). Our results showed that glucose uptake capacity in BAT was very low in these patients at baseline, and showed only a minor, albeit significant, increase upon cold acclimation. However, cold acclimation led to a very marked ~40% increase in insulin sensitivity, as assessed by hyperinsulinemic euglycemic clamps. Such a large increase is likely to be accounted for by effects in skeletal muscle, as this is the major site for glucose disposal under insulin-stimulated conditions (such as during a clamp or after a meal). Indeed, in muscle biopsies we found that cold acclimation caused a very pronounced increase in basal GLUT4 translocation from the cytosol to the muscle cell membrane in order to facilitate glucose uptake. As a consequence, cold-induced glucose uptake in skeletal muscle was increased after the cold acclimation period.

In similar experiments, we investigated the effects of cold acclimation on BAT and skeletal muscle in metabolically healthy obese individuals (**chapter 4**). In these individuals, the cold acclimation period resulted in increased glucose uptake capacity in BAT. BAT glucose uptake was negatively related to age, and positively related to glucose uptake in visceral white adipose tissue (WAT), while visceral and subcutaneous WAT glucose uptake were unchanged upon cold acclimation. Similar to our findings in the type 2 diabetes patients, muscle biopsy analysis in these healthy obese subjects also showed increased basal GLUT4 localization in the muscle cell membrane upon cold acclimation. This was again accompanied by enhanced cold-induced glucose uptake in skeletal muscle.

Taken together, our results in type 2 diabetes patients and healthy obese individuals indicate that, while BAT may be regarded as a team player in improved glucose metabolism upon cold acclimation, skeletal muscle seems to be the key player in this respects, as the metabolic adaptations with the greatest systemic impact occur in this tissue.

Next to activation by cold, we also explored alternative routes to stimulate BAT. In **chapter 5** we studied associations between cold-induced BAT activity and FGF21, a circulating protein that had recently been suggested to have anti-diabetic properties. We showed that serum FGF21 levels are positively related to BAT activity in humans. In addition, we showed that a 10-day cold acclimation period increased serum FGF21 levels, in parallel with increased BAT activity. These results suggest that FGF21 may be a novel target via which BAT activity in humans can be enhanced, in order to improve metabolic health. However, future studies that investigate a direct effect of FGF21 on human BAT are needed to confirm our initial observations.

Individuals of South Asian origin are at increased risk to develop type 2 diabetes and associated comorbidities compared to other ethnicities. A disturbed energy metabolism may be an important contributor to their disadvantageous metabolic phenotype. Since BAT and skeletal muscle are both important players in human energy metabolism, we studied whether BAT activity and skeletal muscle respiratory capacity are different in pre-diabetic South Asian males compared to age- and BMI-matched Caucasian males (**chapter 6**). Our results showed that BAT volume and activity were not different between South Asians and Caucasians, neither was cold-induced glucose uptake in other tissues such as WAT and skeletal muscle. In skeletal muscle biopsies, we observed a lower muscle respiratory capacity in South Asians than in Caucasians. Six weeks of supplementation with L-arginine, a precursor of nitric oxide, did not induce any significant changes in BAT or skeletal muscle respiratory capacity in either group, although it significantly increased total fat free mass in both groups. We conclude that impaired skeletal muscle oxidative capacity may indeed be involved in disturbances in energy metabolism in South Asians. Therapies aimed at improving muscle mitochondrial function may therefore be vital to reduce their risk for the development of adverse metabolic conditions.

This thesis provides important insight into the roles of BAT and skeletal muscle in glucose metabolism upon cold exposure. Prolonged exposure to mild cold temperatures impacts metabolic activity of both tissues and consequently improves metabolic health. Our findings open up a new therapeutic window for the prevention and treatment of type 2 diabetes and associated metabolic conditions.

Nederlandse samenvatting

Het aantal mensen met overgewicht en obesitas is zeer sterk toegenomen in de laatste decennia. Het vele voorkomen van obesitas is de belangrijkste oorzaak voor het tevens sterk gestegen aantal mensen met type 2 diabetes. Type 2 diabetes wordt veroorzaakt door een verminderde gevoeligheid voor het hormoon insuline (i.e. insuline resistentie), en wordt gekenmerkt door een verhoogde hoeveelheid glucose in het bloed. Diabetes heeft een grote impact op de gezondheid en het is een sterke risicofactor voor het ontwikkelen van andere aandoeningen, zoals cardiovasculaire complicaties. Leefstijlinterventies met diëten en inspanning zijn effectief gebleken om het risico op het ontwikkelen van type 2 diabetes te verminderen. Echter, het blijft een enorm probleem om deze interventies te implementeren in de algemene bevolking. Hierdoor is het noodzakelijk om tevens andere effectieve strategieën te onderzoeken.

Bruin vet is hiervoor een veelbelovende kandidaat. Bruin vet bezit de unieke capaciteit om energie die vrijkomt uit de verbranding van glucose en vetten vrij te geven als warmte. Deze warmte-genererende capaciteit van bruin vet wordt aangesproken als personen worden blootgesteld aan een koude omgeving. Bruin vet wordt dan geactiveerd om zo bij te dragen en het op peil te houden van de kerntemperatuur. De extra energie die op deze manier wordt gebruikt wordt niet-rillende thermogenese genoemd en draagt bij aan een verhoogd totaal energiegebruik van het hele lichaam. Dit zou zeer gunstig kunnen zijn in de strijd tegen overgewicht. Immers, wanneer de energie-inname constant blijft en het energiegebruik stijgt, wordt er een negatieve energie balans gecreëerd waardoor gewichtsverlies zal optreden. Daarnaast verbruikt geactiveerd bruin vet een grote hoeveelheid glucose, om hieruit warmte te genereren. Dit leidt tot een verhoogde klaring van glucose uit het bloed, en zou dus in het bijzonder gunstig zijn voor type 2 diabetes patiënten, waarbij sprake is van een verhoogde bloedglucosespiegel. In dit proefschrift hebben we onderzocht wat de rol van bruin vet is in de ontwikkeling en mogelijke behandeling van type 2 diabetes in mensen.

Bij type 2 diabetes patiënten zou insuline resistentie bij kunnen dragen aan een verminderde capaciteit van bruin vet om glucose op te nemen tijdens koude blootstelling. Echter, het merendeel van de type 2 diabetes patiënten is tevens vaak van hogere leeftijd en/of heeft overgewicht, en deze twee factoren zijn beide ook geassocieerd met een verlaagde glucose opname capaciteit in bruin vet. Hierom hebben we het effect van insuline resistentie op de glucose opname capaciteit van bruin vet onderzocht in jonge, gezonde personen na een periode van

langdurig (54uur) vasten (**hoofdstuk 2**). Langdurig vasten veroorzaakt namelijk insuline resistentie in perifere weefsels, zoals bruin vet, om zo glucose te sparen als brandstof voor de hersenen. In deze studie lieten we zien dat vasten-geïnduceerde insuline resistentie leidt tot een sterke vermindering van glucose opname in bruin vet tijdens koude blootstelling, zoals we hebben gemeten middels [^{18}F]FDG-PET/CT scanning. Tevens was de niet-rillende thermogenese verminderd. Middels moleculaire beeldvorming en modellering vonden we dat de verminderde glucose opname in bruin vet werd veroorzaakt door verminderde cellulaire glucose opname en niet door verminderd aanbod van glucose (door de lagere bloedglucosespiegel na het vasten). Het zou kunnen worden verwacht dat in andere insuline resistente condities, zoals type 2 diabetes, koude-gestimuleerde glucose opname in bruin ook is verminderd.

Als bruin vet activiteit inderdaad is verminderd in type 2 diabetes, zou het verhogen van de hoeveelheid en activiteit van bruin vet mogelijk kunnen leiden tot een verbeterde metabole gezondheid door een verhoogde glucose klaring door dit weefsel. In een eerdere studie in jonge, gezonde personen had onze onderzoeksgroep aangetoond dat de hoeveelheid en activiteit van bruin vet in het lichaam kan worden vergroot door middel van langdurige (10 dagen, 6u/dag) blootstelling aan milde koude temperaturen (16 °C; i.e. koude acclimatisatie). Om te onderzoeken of de hoeveelheid bruin vet ook kan worden verhoogd in type 2 diabetes patiënten en of dit vervolgens leidt tot verhoogde glucose klaring, hebben we eenzelfde koude acclimatisatie protocol uitgevoerd in deze patiënten (**hoofdstuk 3**). Onze resultaten lieten zien dat de glucose opname capaciteit in bruin vet zeer laag was bij deze patiënten bij aanvang van de studie. Na de koude acclimatisatie periode was er slechts een kleine, maar wel significante, stijging zichtbaar in de bruin vet glucose opname capaciteit. Echter, koude acclimatisatie leidde wel tot een zeer grote ~40% toename in insuline gevoeligheid, gemeten met hyperinsulinemische euglycemische clamps. Zo'n grote toename kan zeer waarschijnlijk worden toeschreven aan effecten in de skeletspier; hier wordt namelijk de grootste hoeveelheid glucose opgenomen onder insuline-gestimuleerde condities (zoals tijdens een clamp of na een maaltijd). Inderdaad, in spierbiopten vonden we dat koude acclimatisatie een sterke toename in basale GLUT4 translocatie vanuit het cytosol naar het spier-celmembraan had veroorzaakt, om zo glucose opname te faciliteren. Als gevolg hiervan was de

koude-geïnduceerde glucose opname in de skeletspier dan ook verhoogd na de koude acclimatisatie periode.

In een vergelijkbare studie hebben we tevens het effect van koude acclimatisatie op bruin vet en de skeletspier onderzocht in metabool gezonde obese personen (**hoofdstuk 4**). Bij deze personen veroorzaakte de koude acclimatisatie periode een verhoogde glucose opname capaciteit in bruin vet. Glucose opname in bruin vet was negatief gerelateerd aan leeftijd, en positief gerelateerd aan glucose opname in visceraal wit vet. Echter, glucose opname in visceraal en subcutaan wit vet was onveranderd na koude acclimatisatie. Vergelijkbaar met onze bevindingen in de type 2 diabetes patiënten ontdekten we middels spierbiopt-analyse in deze gezonde obese personen ook een verhoogde basale GLUT4 lokalisatie in het spiercelmembraan na koude acclimatisatie. Dit vertaalde zich ook hier in een verhoogde koude-geïnduceerde glucose opname in de skeletspier na de koude acclimatisatie periode.

Tezamen wijzen onze resultaten in de type 2 diabetes patiënten en gezonde obese personen erop dat bruin vet mogelijk een belangrijke team speler is in het verbeterde glucose metabolisme na koude acclimatisatie, maar dat de skeletspier hierbij waarschijnlijk de hoofdrolspeler is, aangezien de metabole adaptaties met de grootste systemische impact in dit weefsel plaatsvinden.

Naast activatie door koude-blootstelling hebben we ook alternatieve methoden om bruin vet te stimuleren onderzocht. In **hoofdstuk 5** onderzochten we associaties tussen koude-geïnduceerde bruin vet activiteit en FGF21, een circulerend eiwit waarvan is aangetoond dat het anti-diabetes effecten heeft. Wij lieten zien dat serum FGF21 concentraties positief gerelateerd zijn aan bruin vet activiteit in mensen. Daarnaast vonden we dat een 10-daagse koude acclimatisatie periode leidde tot verhoogde serum FGF21 concentraties, parallel aan verhoogde bruin vet activiteit. Deze resultaten suggereren dat FGF21 een nieuw doelwit zou kunnen zijn waardoor bruin vet activiteit in mensen kan worden verhoogd, om zo de metabole gezondheid te verbeteren. Echter, aanvullende studies naar het directe effect van FGF21 op bruin vet in mensen zijn noodzakelijk om onze bevindingen hieromtrent te bevestigen.

Mensen van Zuid Aziatische afkomst hebben een verhoogd risico op de ontwikkeling van type 2 diabetes en aanverwante aandoeningen in vergelijking met mensen van andere etniciteit. Een verstoord energie metabolisme zou in

belangrijke mate kunnen bijdragen aan hun nadelige metabole fenotype. Aangezien bruin vet en de skeletspier beide een belangrijke rol spelen in humaan energie metabolisme, hebben we onderzocht of bruin vet activiteit en respiratoire capaciteit in de skeletspier verschillend zijn tussen pre-diabete Zuid Aziatische mannen en leeftijd- en BMI-gematchte Kaukasische mannen (**hoofdstuk 6**). Onze resultaten lieten zien dat het volume en de activiteit van bruin vet niet verschillend waren tussen de Zuid Aziaten en de Kaukasiërs. Tevens was koude-geïnduceerde glucose opname in andere weefsels, zoals wit vet en de skeletspier, niet verschillend. In skeletspier-biopsen ontdekten we een lagere respiratoire capaciteit in spierweefsel van de Zuid Aziaten in vergelijking met de Kaukasiërs. Zes weken supplementie met L-arginine, een voorloper van stikstofdioxide in het lichaam, resulteerde in geen van beide groepen in veranderingen in bruin vet of respiratoire capaciteit in de skeletspier. Er vond wel in beide groepen een significante stijging in vetvrije massa plaats na L-arginine supplementie. Uit deze bevindingen concluderen we dat een verminderde oxidatieve capaciteit in de skeletspier inderdaad kan bijdragen aan verstoringen in het energie metabolisme in Zuid Aziaten. Therapieën gericht op het verbeteren van hun mitochondriële functie zouden hierdoor essentieel kunnen zijn om hun risico op het ontwikkelen van stofwisselingsziekten te verminderen.

Dit proefschrift biedt belangrijke inzichten in de rol van bruin vet en de skeletspier in glucose metabolisme tijdens koude blootstelling. Langdurige blootstelling aan milde koude temperaturen beïnvloedt de metabole activiteit van deze weefsels en hierdoor wordt de metabole gezondheid bevorderd. Onze bevindingen openen hiermee nieuwe therapeutische mogelijkheden voor het voorkomen en behandelen van type 2 diabetes en aanverwante aandoeningen.