

Improvement of muscle lipid-turnover in insulin resistance and type 2 diabetes

Citation for published version (APA):

op den Kamp, Y. J. M. (2021). *Improvement of muscle lipid-turnover in insulin resistance and type 2 diabetes: A supplementation and pharmacological approach*. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20210617yk>

Document status and date:

Published: 01/01/2021

DOI:

[10.26481/dis.20210617yk](https://doi.org/10.26481/dis.20210617yk)

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.

SAMENVATTING

Een wereldwijde toename van mensen met overgewicht of (morbide) obesitas blijft een probleem voor de volksgezondheid in de huidige samenleving (1). Een onbalans tussen inname van calorierijke maaltijden en lage fysieke activiteit, zorgt voor de ontwikkeling van obesitas en daarmee een toename van verschillende chronische ziekten zoals hart- en vaatziekten, leververvetting en type 2 diabetes (2, 3). De opslag van overtollig vet bij mensen met obesitas, voornamelijk in ectopische weefsels als lever en skeletspier, draagt bij aan de ontwikkeling van metabole stoornissen en insuline resistentie (4, 5). Potentieel kan het verminderen van de opslag van ectopisch vet bij patiënten met type 2 diabetes, zorgen voor een vermindering van insuline resistentie. Van verschillende typen medicijnen weten we dat ze effect hebben op het vet metabolisme in de (skelet) spier. Dit kan door het verhogen van vetoxidatie in de spier, of door een afnemende beschikbaarheid van vetzuren naar de spier toe.

Het doel van dit proefschrift is het identificeren van mechanismen achter de ontwikkeling van insuline resistentie door de opslag van ectopisch vet in skeletspier. Daarnaast is er gekeken naar de mogelijkheid om via supplementen of een farmacologische benadering de omzetting van lipiden in het lichaam te veranderen, en daarmee de insuline resistentie te verminderen.

Hoofdstuk 2 brengt met behulp van de beschikbare literatuur in kaart wat het effect van verschillende soorten supplementen, nodig voor suiker en vet metabolisme in skeletspier, en verschillende soorten medicatie gebruikt voor type 2 diabetes en hyperlipidemie en hypercholesterolemie, op de lipidenomzet en vetopslag in de spier is. Daarnaast werd in dit hoofdstuk ook gekeken of een aanpassing van de lipidenomzet en vetopslag, ook leidt tot een verbetering in insuline gevoeligheid in de spier. Binnen de groep aan supplementen kunnen we de volgende conclusies trekken: 1) supplementatie van NAD⁺ precursoren lijkt de mitochondriële oxidatieve capaciteit onvoldoende te verhogen, met als gevolg dat er geen effect wordt gezien op vetopslag en insuline gevoeligheid in de spier; 2) resveratrol supplementatie laat een verbeterde capaciteit voor vetoxidatie zien, vergelijkbaar aan interventies met inspanning en langdurig vasten, met als gevolg een verhoging van vetopslag in de spier zonder verbetering van insuline gevoeligheid; 3) supplementatie van carnitine verbetert de β -oxidatie en verhoogt de metabole flexibiliteit, zonder een duidelijke verbetering in insuline gevoeligheid. Binnen de groep van medicatie kunnen we de volgende conclusie trekken: 1) PPAR δ agonisten,

die uitsluitend mitochondriale biogenese stimuleren in skelet spier, lijken onvoldoende in staat te zijn om vetopslag of lipidenomzet te verbeteren, zonder effect op insuline gevoeligheid; 2) PPAR α agonisten, GLP-1 agonisten en DPPIV-inhibitoren kunnen via een verhoogde vetoxidatie in skelet spier en verlaging van vetzuur afgifte vanuit de lever, de lipidenomzet in de spier verbeteren, met een verbetering in insuline gevoeligheid tot gevolg; 3) PPAR γ agonisten en het acute effect van acipimox, leiden tot sterke plasma vetzuur daling, door het remmen van lipolyse en verhoogde vetzuuropname in vetweefsel, met als gevolg een sterke verbetering in insuline gevoeligheid in de spier door lagere vetopslag in de spier. Voornamelijk het verlagen van plasma vetzuur waarden, met als gevolg lagere vetopslag in de spier, lijkt een sterke verlaging van insuline resistentie te veroorzaken.

Met de kennis dat vetopslag in de spier bijdraagt aan de ontwikkeling van insuline resistentie, hebben we in **hoofdstuk 3** onderzocht hoe de hoge vetopslag in insuline gevoelige duuratleten verschilt van de vetopslag in obese insuline resistente mensen. In een cross-sectioneel onderzoek met 103 proefpersonen tonen we middels ^1H -MRS aan dat de vetopslag in m. vastus lateralis even hoog is in duuratleten en obese insuline resistente proefpersonen, en daarmee hoger dan insuline gevoelige sedentaire proefpersonen. Daarentegen is de insuline gevoeligheid, voornamelijk door een stijging in niet-oxidatieve glucose opname, hoger in duuratleten vergeleken met obese insuline resistente proefpersonen. De vetopslag in atleten bevindt zich voornamelijk rondom de mitochondriën, terwijl de vetopslag bij insuline gevoelige en resistente sedentaire proefpersonen minder rondom de mitochondriën is gepositioneerd. Verder is de mitochondriële respiratoire capaciteit het hoogst in duuratleten en het laagst in insuline resistente sedentaire proefpersonen. Dit kan suggereren dat de lipidenomzet in atleten hoger is dan in sedentaire proefpersonen, en de opslag van vet meer rondom de mitochondriën plaats vind. Eerder onderzoek heeft uitgewezen dat vet in atleten voornamelijk in oxidatieve type I spiervezels is opgeslagen in de intermyofibrillaire regio's, terwijl bij insuline resistente proefpersonen het vet voornamelijk in type II spiervezels is opgeslagen onder het sarcolemma, overeenkomend met de resultaten in **hoofdstuk 3**. Verder is bekend uit literatuur, dat voornamelijk schadelijke lipide-intermediären zorgen voor een verminderde insuline signaleringsfunctie in skeletspier. Mogelijk dat de plek van vetopslag in de spier zorgt voor de verschillen die we zien in insuline gevoeligheid en glucose opname in skeletspier.

Aangezien uit literatuur blijkt dat het verhogen van carnitine beschikbaarheid via carnitine supplementatie effectief is in het verbeteren van vetoxidatie in skeletspier, en daarmee de metabole flexibiliteit verbeterd, blijft de vraag of carnitine supplementatie in staat is om de vetopslag geïnduceerde insuline resistentie te verminderen of voorkomen. Daarom is het effect van carnitine supplementatie op insuline gevoeligheid en metabole flexibiliteit onderzocht in 8 jonge gezonde insuline gevoelige mannen. In **hoofdstuk 4** beschrijven we een placebo-gecontroleerd onderzoek, waarbij we een lipide-infusie gebruiken als model om de proefpersonen insuline resistent te maken. De infusie van lipiden verhoogt de plasma vetzuur concentratie en daarmee verhoogt het zowel insuline resistentie als metabole inflexibiliteit. Verder is er een verhoging van acylcarnitines in het plasma te zien, mogelijk als gevolg van verhoogde afgifte van tussenproducten van β -oxidatie door spierweefsel en lever. Gelijktijdige infusie van carnitine is echter niet in staat om de ontwikkelde insuline resistentie en metabole flexibiliteit te verminderen. Ondanks een verhoging van plasma acylcarnitine waarden ten opzichte van alleen lipide-infusie, is er geen verhoogde beschikbaarheid van carnitine te vinden in skeletspier. Mogelijk dat de acuut geïnduceerde insuline resistentie door lipide-infusie, voorkomt dat carnitine kan worden opgenomen in de skeletspier.

Omdat het effect van carnitine infusie in acuut geïnduceerde insuline resistentie teniet wordt gedaan door lipide-infusie, hebben we in **hoofdstuk 5** gekozen voor het rekruteren van patiënten met type 2 diabetes. We hebben onderzocht of 3 maanden carnitine supplementatie in 32 patiënten met type 2 diabetes, de carnitine beschikbaarheid en vorming van acetylcarnitine kan verhogen en daarmee de insuline gevoeligheid verbeterd kan worden. Met behulp van ^1H -MRS hebben we aangetoond dat de vorming van acetylcarnitine inderdaad verbeterd na carnitine supplementatie en dat insuline gevoeligheid in skeletspier verbeterd, voornamelijk door een stijging van niet-oxidatieve glucose opname in de spier. Gelijktijdig is er geen verbetering in metabole flexibiliteit opgemerkt, waarmee geïmpliceerd kan worden dat de verbeterde carnitine beschikbaarheid niet zozeer de afstemming van vet en koolhydraatverbranding in de mitochondriën veranderd, maar wel de glucose opname in de spier verhoogd. Mogelijk dat de supplementatie van carnitine de accumulatie van acyl-CoA's en lipide-tussenproducten in de skeletspier verlaagt. Verder rapporteren we een verbeterde onderdrukking van endogene glucoseproductie in de lever en een trend naar een verlaagde vetopslag in de lever, na carnitine supplementatie. Dit zou suggereren dat carnitine de afgifte van tussenproducten van β -oxidatie verhoogt, met als gevolg een

lagere intrahepatische vetopslag.

In **hoofdstuk 6** rapporteren we een dubbelblinde, gerandomiseerd, placebo gecontroleerde, cross-over studie met 26 patiënten met type 2 diabetes, welke gedurende 5 weken SGLT2i behandeling kregen. SGLT2i behandeling resulteert in een toename van glucose excretie in de urine, en zorgt daarmee voor een dagelijkse milde calorie restrictie. Ook is er reeds aangetoond dat deze vorm van calorie restrictie zorgt voor een daling van insuline secretie en toename van glucagon productie, en neemt de vetoxidatie toe. Deze metabole veranderingen lijken op andere vormen van calorie restrictie, zoals lang vasten en sporten. De hypothese is dat de toename in vetoxidatie, als gevolg van calorie restrictie, zorgt voor een afname van ectopisch vetopslag in de lever en spieren. De behandeling met dapagliflozine zorgde voor een verhoogde lipolyse en vetoxidatie, wat resulteerde in hogere plasma vetzuur waarden. Dapagliflozine zorgde ook voor een negatieve 24-uurs energiebalans, voornamelijk door een negatieve vetbalans. Verder verbeterde de insuline gevoeligheid in vetweefsel en in de lever. De verbetering in insuline gevoeligheid in de lever valt samen met een afname in intrahepatische vetopslag. Daarnaast leek de toename in vetoxidatie gedurende de nacht meer toe te nemen na het gebruik van dapagliflozine, wat een teken is voor een verbeterde metabole flexibiliteit. Deze effecten laten een duidelijke verbetering van de metabole gezondheid zien. De insuline gevoeligheid in de skeletspier is niet veranderd met dapagliflozine, in tegenstelling tot eerdere onderzoeken. Het uitblijven van een verbeterde insuline gevoeligheid in de spier kan veroorzaakt worden door de hogere plasma vetzuurwaarden die we zien na dapagliflozine behandeling, als gevolg van hogere lipolyse.

Interventies waarbij calorie restrictie optreedt, heeft in eerdere onderzoeken laten zien dat dit zowel vetoxidatie als mitochondriële capaciteit kan verhogen. Insuline resistente skeletspieren worden geassocieerd met een verminderde mitochondriële functie, als gevolg van een overmaat aan mitochondrieel substraat. Een van de mechanismen waarop het lichaam kan voorkomen dat deze substraten te veel gaan stapelen, is door de omzetting van acetyl-CoA naar acetylcarnitine, een mechanisme dat bij patiënten met type 2 diabetes niet optimaal functioneert. De behandeling met dapagliflozine in **hoofdstuk 6** heeft laten zien dat er calorie restrictie-achtige effecten ontstaan, in combinatie met een toename van vetoxidatie in skeletspieren. Daarom hebben we in **hoofdstuk 7** de hypothese onderzocht dat SGLT2i behandeling, via calorie restrictie-achtige effecten, de substraatcompetitie op mitochondrieel niveau vermindert.

In vivo en *ex vivo* mitochondriële respiratie blijven onveranderd na behandeling met dapagliflozine. Daarentegen is de opslag van intramyocellulaire lipiden na behandeling met dapagliflozine hoger dan na behandeling met placebo. Verder zien we ook dat de maximale oxidatieve fosforyleringscapaciteit negatief correleert met de opslag van intramyocellulaire lipiden, wat suggereert dat in patiënten met type 2 diabetes een lage mitochondriële oxidatieve capaciteit de drijvende kracht achter vetstapeling in de spier is. Verder zien we dat de verandering in insuline gevoeligheid, juist positief correleert met de verandering in vetopslag in de spier. De hogere vetoxidatie na behandeling met dapagliflozine en de hogere vetopslag in de spier zijn suggestief voor een hogere lipidenomzet, onafhankelijk van de mitochondriële respiratie capaciteit. De hogere vetoxidatie is ook terug te zien in de hogere acylcarnitine spiegels in de skeletspier. Deze resultaten laten zien dat 5 weken behandeling met een SGLT2i zorgt voor calorie restrictie-achtige effecten in het lichaam en specifiek ook in de skeletspier, waarmee de vetoxidatie en vetopslag wordt verhoogd, wat tekenend is voor een metabool flexibel spier fenotype. Analyse van dit fenotype, bijvoorbeeld het bepalen van vetdruppel dynamiek en de vetverdeling over verschillende spiervezel types, kan mogelijk meer informatie geven over de verandering in vetopslag in de spier. Behandeling van SGLT2i over een langere periode is nodig om de lange termijn effecten op insuline gevoeligheid en metabole gezondheid te bepalen.

CONCLUSIE

Het doel van dit proefschrift was het identificeren van mechanismen achter de insuline resistentie in skeletspier. Daarnaast is er ook gekeken naar de mogelijkheid om via supplementen of een farmacologische benadering de omzetting van lipiden in het lichaam te veranderen, en daarmee de insuline resistentie te verminderen. We kunnen concluderen dat vetopslag rondom de mitochondriën voordelig is, omdat dit geen insuline resistentie lijkt te induceren. Mogelijk is dit een van de tekenen van een hogere omzet van lipiden in de spier. Het stimuleren van een (relatief) hogere omzet van lipiden in de spier lijkt een positief effect te hebben op de verbetering van insuline resistentie in de spier. Dit kan mogelijk bewerkstelligd worden door een lagere opslag van (schadelijke) vetten in de skeletspier (carnitine supplementatie). Anderzijds kan ook de vetverbranding gestimuleerd worden (SGLT2i behandeling), wat een verbetering van metabole gezondheid en verhoging van insuline gevoeligheid in verscheidene weefsels geeft, behoudens de skeletspier.

REFERENTIES

1. Arroyo-Johnson C, Mincey KD. Obesity Epidemiology Worldwide. *Gastroenterol Clin North Am.* 2016;45(4):571-9.
2. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell.* 2012;148(5):852-71.
3. Samuel VT, Shulman GI. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *J Clin Invest.* 2016;126(1):12-22.
4. Krssak M, Roden M. The role of lipid accumulation in liver and muscle for insulin resistance and type 2 diabetes mellitus in humans. *Rev Endocr Metab Disord.* 2004;5(2):127-34.
5. Petersen KF, Dufour S, Savage DB, Bilz S, Solomon G, Yonemitsu S, et al. The role of skeletal muscle insulin resistance in the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(31):12587-94.