

# Il grasso ectopico. Esito deleterio dell'interazione tra insulino-resistenza e metabolismo energetico?

Gianluca Perseghin

Università degli Studi di Milano, Facoltà di Scienze Motorie e Divisione di Medicina Interna, Istituto Scientifico San Raffaele di Milano

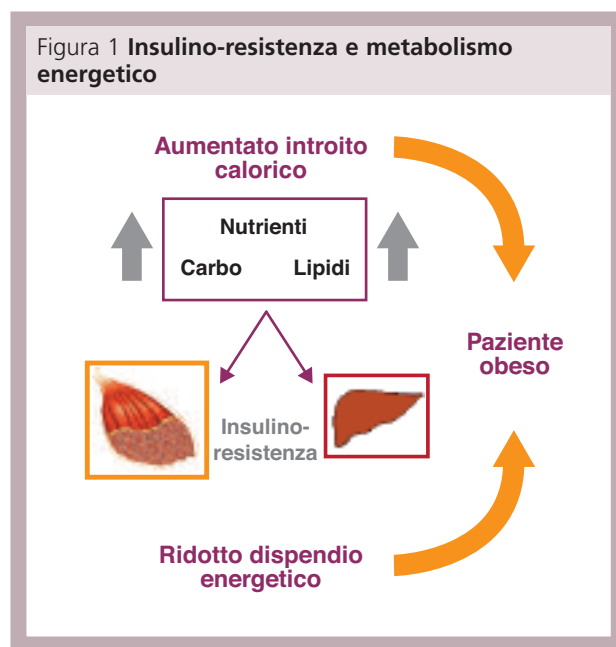
## Introduzione

Il diabete tipo 2 (DMT2) è una malattia che si manifesta in pazienti con caratteristiche fenotipiche eterogenee. Ciononostante esiste un sostanziale accordo generale per cui, fermo restando l'eterogeneità del quadro clinico, la sua insorgenza è la conseguenza dell'interazione tra l'insulino-resistenza – definita come una ridotta capacità dell'insulina di controllare efficacemente il metabolismo del glucosio a livello epatico e muscolare – e la compromissione della funzione  $\beta$ -cellulare. Il risultato finale, dal punto di vista patogenetico, è che, durante un periodo di tempo variabile di paziente in paziente, l'insulino-secrezione diventa incapace di fronteggiare adeguatamente il grado di insulino-resistenza periferica, potenzialmente già dimostrabile anni prima dell'insorgenza dell'iperglicemia (1).

L'insulino-resistenza è quindi un fattore di importanza decisiva nella patogenesi del DMT2 (Figura 1). Essa è, infatti, una caratteristica fenotipica che si riscontra in modo consistente nei pazienti affetti da DMT2 e la sua presenza può essere dimostrata anche 10–20 anni prima dell'insorgenza di iperglicemia. Infatti, studi prospettici hanno dimostrato che essa rappresenta il miglior fattore capace di prevedere la futura insorgenza di diabete in popolazioni di individui a rischio (2). Questa “visione” della patogenesi del DMT2 rappresenta la sequenza di eventi della storia naturale della malattia in cui, tradizionalmente, le alterazioni del metabolismo del glucosio giocano un ruolo centrale (visione glucocentrica). Una interpretazione lipocentrica della patogenesi del DMT2 si è fatta strada più recentemente. È stato infatti proposto che l'effetto del-

l'esposizione cronica ad aumentate concentrazioni sieriche di acidi grassi liberi non-esterificati (NEFA), conosciuta come lipotossicità, possa anche spiegare le alterazioni della sensibilità insulinica che hanno luogo simultaneamente a livello di muscolo scheletrico, fegato, cuore, tessuto adiposo, e  $\beta$ -cellula (3, 4).

Le concentrazioni sieriche di NEFA sono spesso



L'obesità, la sindrome metabolica e il DMT2 si caratterizzano per la presenza di insulino-resistenza. L'insulino-resistenza può svilupparsi sia sulla base di una predisposizione ereditaria che a causa degli effetti dell'ambiente; la sedentarietà e una dieta ricca di calorie possono infatti contribuire al suo sviluppo. Quale possa essere la relazione tra l'insulino-resistenza e alterazioni del metabolismo energetico nell'organismo in toto rimane oscura. Un approccio alla comprensione di questi meccanismi potrebbe essere quello di studiare il metabolismo energetico nei singoli organi e tessuti

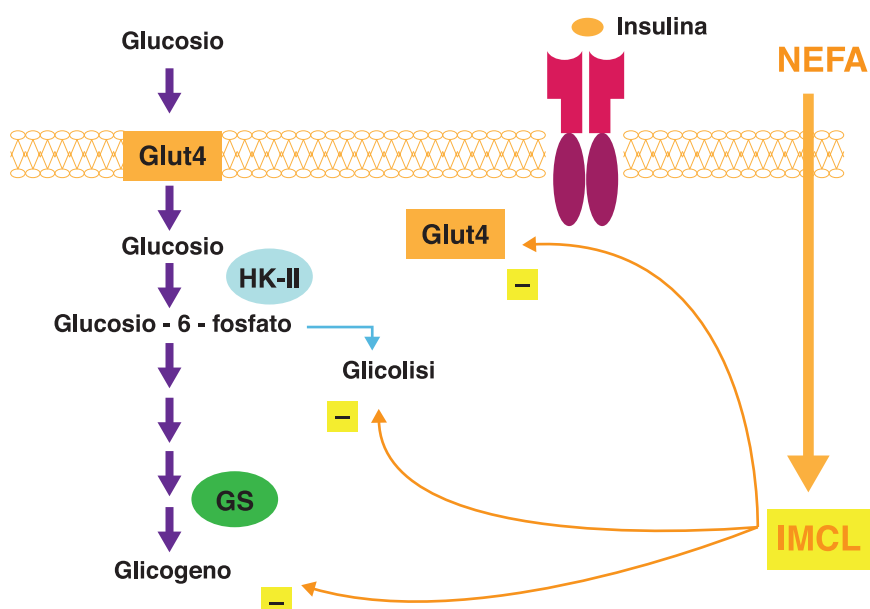
umentate sia in condizioni di digiuno sia durante la somministrazione di insulina in pazienti insulino-resistenti, come gli individui obesi o affetti da DMT2 (5). Questa alterazione sembra manifestarsi precocemente in individui insulino-resistenti ben prima dell'insorgenza del diabete. Infatti, in uno studio trasversale eseguito in un gruppo di 49 giovani individui normopeso, con entrambi i genitori affetti da DMT2, abbiamo osservato che, malgrado questi soggetti avessero anche una normale tolleranza al carico orale di glucosio, le concentrazioni sieriche dei NEFA erano in media più elevate rispetto al gruppo di controllo, comparabile accuratamente per le caratteristiche antropometriche, ma senza una storia familiare di diabete. L'aumento della concentrazione sierica dei NEFA era, inoltre, inversamente proporzionale all'insulino-sensibilità che era stata misurata mediante il clamp insulinico (6).

Come si può spiegare in termini fisiopatologici un effetto deleterio dei NEFA sull'insulino-resistenza nell'organismo *in toto*? In condizioni sperimentali, come il clamp iperinsulinico e combinando a esso l'utilizzo della calorimetria indiretta, è stato dimostrato da anni che il metabolismo del glucosio somministrato durante la procedura è determinato dall'utilizzo ossidativo (circa 30-40%) e da quello non ossidativo (60-70%).

Utilizzando la metodica della risonanza magnetica in spettroscopia (MRS) del <sup>13</sup>C applicata al muscolo scheletrico e arricchendo la disponibilità di glucosio marcato con questo isotopo del carbonio ([1-<sup>13</sup>C]-glucosio) nella soluzione utilizzata per eseguire il clamp, Shulman et al. hanno dimostrato come il 90-95% del metabolismo non-ossidativo del glucosio è rappresentato dalla glicogeno-sintesi muscolare (7). Studi successivi, eseguiti con la stessa metodica combinata al clamp insulinico, hanno dimostrato che durante l'aumento indotto artificialmente della concentrazione sierica di NEFA, mediante la somministrazione combinata di una soluzione di trigliceridi + eparina in individui sani e giovani non insulino-resistenti, è proprio la via metabolica della glicogeno-sintesi muscolare a essere specificatamente penalizzata dalla eccessiva disponibilità di NEFA nell'arco di tempo di poche ore (Figura 2) (8).

L'incapacità di sintetizzare appropriatamente glicogeno a livello muscolare durante lo stimolo insulinico è considerata alla base della patogenesi dell'insulino-resistenza, anche perchè rappresenta un'alterazione che si è dimostrata essere presente nei giovani individui normopeso con entrambi i genitori affetti da DMT2 (9). Queste osservazioni erano quindi consistenti e hanno rafforzato l'ipotesi secondo la quale un'alterazione del

Figura 2 Interazione tra il metabolismo del glucosio e degli acidi grassi



L'aumento acuto della disponibilità di NEFA nel torrente circolatorio determina a livello del muscolo scheletrico l'insorgenza di insulino-resistenza da imputare a una ridotta capacità di metabolizzare glucosio nella via metabolica glicogeno-sintetica a causa di difetti multipli che si localizzano verosimilmente a livello del trasporto, fosforilazione del glucosio ed eventualmente anche a livello dell'attività della glicogeno-sintetasi (8)

metabolismo dei NEFA può essere associata alla severità dell'insulino-resistenza per il metabolismo del glucosio nell'organismo *in toto*.

In questo articolo verranno descritti i risultati di alcuni lavori che hanno contribuito a ipotizzare l'esistenza dell'interazione tra le alterazioni del metabolismo del glucosio e dei NEFA, soprattutto in riferimento al ruolo che l'eccessivo accumulo di trigliceridi nel citoplasma di cellule non specializzate (accumulo ectopico nel muscolo scheletrico, fegato e cuore) può giocare nella patogenesi dell'insulino-resistenza e delle alterazioni del metabolismo energetico.

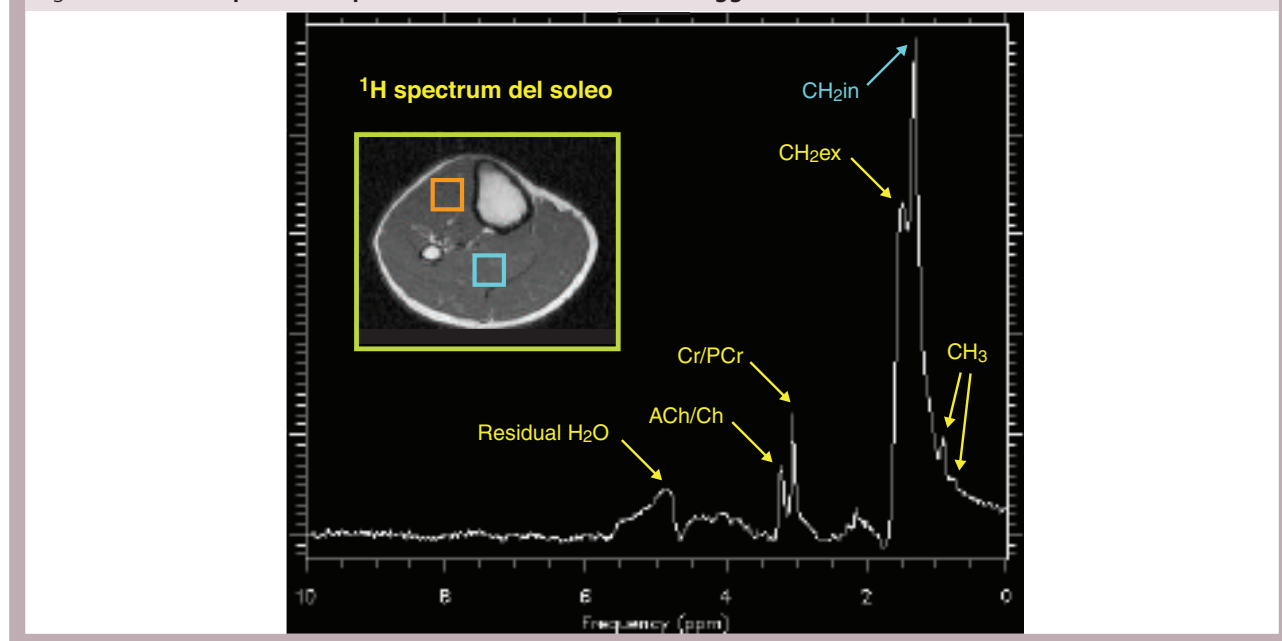
## Grasso ectopico: effetti sulla regolazione del metabolismo insulino-stimolato

### Muscolo scheletrico

Da anni era stato ipotizzato da McGarry che l'accumulo ectopico di trigliceridi nel citoplasma della cellula muscolare scheletrica potesse essere responsabile dell'insulino-resistenza periferica osservata nei pazienti affetti da DMT2 (3). Negli anni seguenti è stato dimostrato che un eccessivo accumulo di trigliceridi intramiocellulari (IMCL) si può associare a condizioni di

insulino-resistenza dell'organismo *in toto* in individui non diabetici (10), in individui non diabetici ma con un aumentato rischio di sviluppare il diabete nel futuro per la presenza di un background genetico (parenti di primo grado di individui malati) (11, 12) e in pazienti affetti da DMT2 (Figura 3) (13). Oltre a questi studi di correlazione, sono stati prodotti dati relativi a studi dinamici. Ad esempio, gli effetti della diversione biliopancreatica, intervento chirurgico che induce un quadro clinico di predominante malassorbimento lipidico, sono stati comparati a quelli del classico intervento nutrizionale ipocalorico in pazienti con obesità morbigena (14). L'approccio chirurgico ha determinato una riduzione del peso corporeo accompagnata da una selettiva deplezione degli IMCL (stabilita mediante metodiche istochimiche quantitative ottenute su biopsie del muscolo quadricipite) e in parallelo si è ottenuto un marcato miglioramento del quadro di insulino-resistenza nell'organismo *in toto*. Gli stessi risultati non sono stati ottenuti con il protocollo di intervento dietetico ipocalorico; esso ha determinato, infatti, una riduzione del peso corporeo meno significativa in associazione a una più piccola riduzione degli IMCL e, in parallelo, a un leggero miglioramento dell'insulino-sensibilità dell'organismo *in toto*. Un altro aspetto

Figura 3 Classico spettro del protone del muscolo soleo di soggetto sano normale



Nel riquadro è rappresentata la proiezione assiale del polpaccio del volontario con i volumi di interesse (VOI) localizzati nel muscolo soleo (azzurro) e tibiale anteriore (arancione). Lo spettro evidenzia a 1,2 ppm il segnale dei residui  $\text{CH}_2$  delle catene alifatiche degli acidi grassi che costituiscono i trigliceridi negli adipociti presenti tra le fibre muscolari (in giallo; extramiocellulare) e nel citosol miocellulare (in azzurro; intramiocellulare) (11)

importante di questo studio è legato al fatto che, 6 mesi dopo l'intervento chirurgico, era stato possibile dimostrare una normalizzazione degli IMCL e dell'insulino-resistenza a dispetto del fatto che, nonostante si fosse significativamente ridotto, l'indice di massa corporea rimanesse nel range dell'obesità ( $>30 \text{ kg/m}^2$ ). Sulla base degli studi discussi e di altre numerose osservazioni, si potrebbe concludere che la relazione tra il contenuto intramiocellulare di trigliceridi e l'insulino-resistenza nell'uomo possa considerarsi accertata. Detto questo, è necessario descrivere l'esistenza di diverse discrepanze che suggeriscono come l'eccessivo contenuto intramuscolare di trigliceridi non possa direttamente essere considerato la causa patogenetica dell'insulino-resistenza. Questa associazione, infatti, quando deve essere interpretata, deve sempre tenere in considerazione parametri antropometrici e il grado di attività fisica abituale degli individui delle popolazioni oggetto di studio. Mentre il contenuto intramiocellulare di trigliceridi e l'insulino-sensibilità sono strettamente associati in maniera inversamente proporzionale in soggetti sedentari, in individui allenati all'esercizio fisico aerobico il contenuto intramiocellulare di trigliceridi predice in maniera direttamente proporzionale l'insulino-sensibilità di questi atleti (15). Inoltre, esaminando uomini e donne giovani, sani e non diabetici, se comparati per grado di insulino-sensibilità, misurata mediante il clamp insulinico, si evidenzia che le donne sono caratterizzate non solo da un'aumentata quantità di tessuto adiposo corporeo, ma anche da un contenuto di IMCL maggiore rispetto a quello degli uomini (16). Questa osservazione suggerisce che l'ambiente ormonale determinato dal sesso è in grado di influenzare l'immagazzinamento dei trigliceridi nel muscolo scheletrico e il suo rapporto con la sensibilità insulinica. Anche individui affetti da una malattia cronico-degenerativa muscolare come la distrofia miotonica di tipo 1 hanno costituito un modello nell'uomo di marcato accumulo intramiocellulare di lipidi sia in muscoli ricchi di fibre di tipo I (muscolo soleo), sia in quelli più ricchi di fibre di tipo II (muscolo tibiale anteriore) in presenza di una insulino-sensibilità nell'organismo *in toto* non particolarmente compromessa (17). Questo studio suggerisce che anche una diversa localizzazione subcellulare dei trigliceridi nel citoplasma della cellula muscolare può avere un diverso effetto metabolico. Infatti, diversamente da altre forme di distrofia muscolare, la distrofia muscolare di tipo 1 non si caratterizza per l'infiltrazione del muscolo da

parte di tessuto adiposo e fibroso. Essa si manifesta, infatti, più frequentemente per alterazioni ultrastrutturali, le cui più classiche descrizioni prevedono l'accumulo di lipidi all'interno dei lisosomi piuttosto che attorno ai mitocondri (pool di utilizzo rapido dei lipidi), come non accade nel DMT2.

### *Miocardio*

In maniera del tutto simile al muscolo scheletrico, anche il miocardio può presentare un eccessivo accumulo intramiocardiocitario di lipidi. In questo caso, però, l'identificazione e la quantificazione di questa alterazione metabolica diventa molto difficile da investigare *in vivo* nell'uomo. Il cuore battente, infatti, è in perpetuo movimento ed è inoltre circondato da una quota variabile di tessuto adiposo pericardico che può interferire con le procedure di quantificazione. È quindi per questa ragione che pochi dati sono a disposizione nell'uomo. Nel miocardio il contenuto di trigliceridi citoplasmatici è proporzionale all'indice di massa corporea (18) e anche l'adiposità non costituisce l'unico fattore associato. Un singolo pasto ricco di grassi non modifica il contenuto di lipidi intramiocardiocitari; comunque, un incremento del 300% può osservarsi in individui che rimangono a digiuno per 48 ore (19) o che seguono una dieta a contenuto calorico molto basso per 3 giorni, probabilmente in seguito al massivo rilascio di NEFA da parte del tessuto adiposo (20). È stato ipotizzato che questo incremento non sia metabolicamente tossico per il miocardiocita inizialmente, ma che cominci a giocare effetti deleteri solo dopo anni di persistente aumento della disponibilità intracellulare di substrati (21). Più recentemente, però, è stato riportato che l'accumulo ectopico di trigliceridi nel miocardio e nel tessuto adiposo epicardico è aumentato in pazienti con un moderato incremento dell'indice di massa corporea in associazione ai livelli circolanti di NEFA, all'eccessivo accumulo ectopico di lipidi e alle resistenze periferiche vascolari. Queste alterazioni erano inoltre riportate in individui che non si caratterizzavano per *overload* e/o ipertrofia del ventricolo sinistro (22). Anche in soggetti modestamente sovrappeso (indice di massa corporea medio di  $27 \text{ kg/m}^2$  circa), ma caratterizzati dal fatto di essere affetti da steatosi epatica, l'accumulo di trigliceridi in sede epicardica è stato dimostrato in assenza di alterazioni morfologiche, strutturali e funzionali del ventricolo sinistro (Figura 4) (23). Uno studio basato sull'analisi di biopsie di pazienti affetti da insufficienza cardiaca

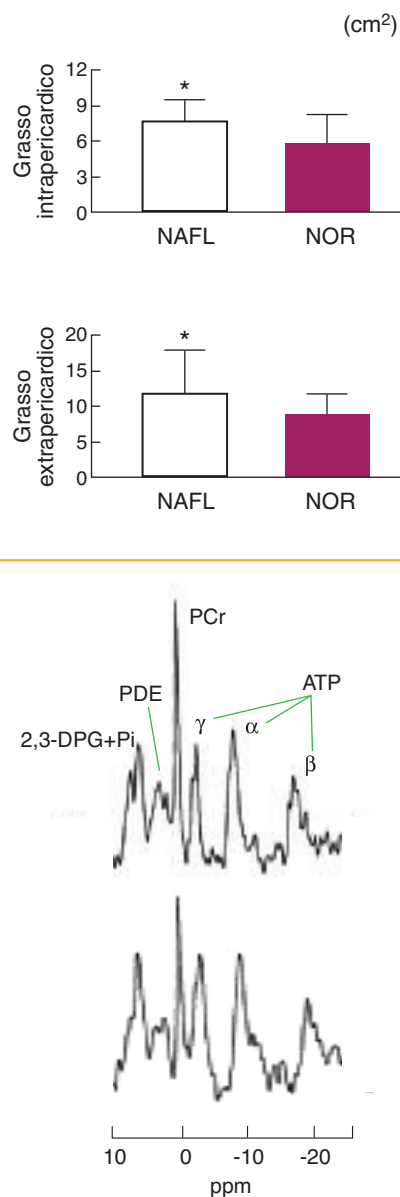
ha dimostrato che gli individui obesi o che erano affetti da DMT2 avevano una concentrazione di trigliceridi intracardiaci aumentati del 500–600% rispetto a quelli osservati nei soggetti sani di controllo. Tale studio ha avuto, inoltre, il pregio di evidenziare il fatto che l'accumulo ectopico era anche proporzionale all'espressione di geni coinvolti nella funzionalità contrattile del ventricolo sinistro (24). A dispetto di queste osservazioni iniziali, sarà necessario dimostrare nel prossimo futuro che l'accumulo ectopico sia proporzionalmente capace di alterare il metabolismo insulino-mediato del glucosio a livello del miocardio. Anche l'accumulo di grasso epicardico potrebbe essere coinvolto nelle alterazioni metaboliche del ventricolo sinistro. L'accumulo in questo distretto, in maniera simile a quello in sede viscerale, potrebbe essere caratterizzato da flussi lipolitici elevati (25) e, in questa localizzazione, i NEFA in eccesso non incontrerebbero barriere anatomiche nel loro potenziale tragitto verso i miocardiociti (26). I livelli circolanti di NEFA sembrerebbero, inoltre, associarsi alla massa del ventricolo sinistro mentre il grasso epicardico sembra essere un marker del lavoro meccanico del ventricolo sinistro (22).

### Fegato

L'accumulo ectopico di trigliceridi nel fegato è stato classicamente descritto in associazione ad alterazioni del metabolismo del glucosio. Sia il metabolismo insulino-stimolato del glucosio sia la soppressione della produzione endogena di glucosio sono marcatamente alterati in pazienti affetti da *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) (27). Questo eccessivo accumulo è abbastanza comune in pazienti obesi e in quelli affetti da DMT2 (27) e viene considerato essere la componente epatica della sindrome metabolica (28, 29).

A sostegno di questa ipotesi, secondo la quale l'eccesso di trigliceridi intraepatici si associa più specificamente a una selettiva insulino-resistenza epatica, ci sono diverse osservazioni. Tra le più convincenti, c'è quella che riporta l'effetto benefico di una moderata riduzione ponderale (10% del peso originario), in pazienti obesi affetti da DMT2, sul contenuto intraepatico di trigliceridi e, in parallelo, una più efficace soppressione della produzione endogena di glucosio durante clamp insulinico, in assenza di un beneficio sul metabolismo periferico (muscolo scheletrico) (30). Questa importante osservazione basata su uno studio con approccio longitudinale è supportata anche da

Figura 4 **Steatosi epatica e grasso periviscerale**



Gli individui con steatosi epatica si caratterizzano non solo per un aumento del tessuto viscerale addominale ma anche per un aumento della quota epicardica sia nel distretto extrapericardico che intrapericardico. In associazione il ventricolo sinistro di questi individui con normale funzione e morfologia si caratterizza per alterazioni del metabolismo energetico proporzionali alla severità dell'insulino-resistenza sistemica (23)

osservazioni trasversali in soggetti non diabetici (31) e in adolescenti obesi (32), nei quali il contenuto intraepatico di trigliceridi è stato misurato mediante MRS dell'<sup>1</sup>H e quindi espresso come una variabile continua piuttosto che categorica.



## Il grasso ectopico e l'ipotesi dell'aumentato flusso di NEFA dal tessuto adiposo

L'ipotesi che l'eccessivo accumulo ectopico di trigliceridi sia sostenuto da un aumentato flusso dal tessuto adiposo verso gli altri organi periferici è sostenuta anche da evidenze sperimentali di tipo longitudinale. Ad esempio, aumentando la concentrazione plasmatica di NEFA mediante la somministrazione endovenosa di una emulsione di trigliceridi combinata con la somministrazione di eparina in infusione continua durante l'esecuzione di un clamp iperinsulinico (1 mU/kg/min), si è osservato che il livello di IMCL a livello dei muscoli soleo e tibiale anteriore è aumentato rispettivamente del 22 e del 61% in soggetti sani normali, malgrado la procedura venisse eseguita per poche ore (33). Questa diversa risposta dei due muscoli è stata confermata anche con un approccio nutrizionale più prolungato nel tempo; soggetti sani normali, infatti, sono stati studiati prima e dopo un intervento nutrizionale di breve durata (3 giorni) che si basava sulla somministrazione di una dieta ricca in grassi (in particolare acidi grassi saturi) comparata a una ricca in carboidrati (34). In accordo con lo studio infusione breve, anche l'intervento nutrizionale con dieta ricca in grassi ha indotto un incremento degli IMCL a livello del muscolo tibiale anteriore più marcato rispetto al soleo. Questo studio ha anche riportato una stretta associazione tra l'accumulo nel muscolo tibiale anteriore e il peggioramento della sensibilità insulinica nell'organismo *in toto*, a dispetto di concentrazioni plasmatiche di NEFA assolutamente comparabili. Questa osservazione, ad esempio, non è stata riportata da altri autori che hanno utilizzato il modello dell'insulino-resistenza indotta dalla somministrazione di acido nicotinico che si associava strettamente all'aumento dei livelli circolanti di NEFA, ma non all'aumento degli IMCL (35).

Anche a livello del miocardio si presume che la steatosi cardiaca possa essere la conseguenza di un aumentato flusso di NEFA dal tessuto adiposo verso il miocardio. Questa ipotesi si basa soprattutto sul risultato di studi che hanno prodotto dati relativi a un crescente accumulo di trigliceridi intracardiaci (misurati mediante <sup>1</sup>H-MRS) in associazione ad aumentati livelli di NEFA circolanti ottenuti in maniera para-fisiologica mediante digiuno prolungato (19) ed è ragionevole che questi dati vengano confermati nel prossimo futuro anche con diversi approcci sperimentali.

I dati relativi al fegato sembrano invece essere più consistenti. L'accumulo intraepatico di trigliceridi appare essere principalmente sostenuto dal flusso di NEFA e proprio sulla base di questa ipotesi la strategia terapeutica più originale proposta negli ultimi anni come trattamento del DMT2 è stata quella che prevede l'utilizzo di tiazolidinedioni (36). In individui con steatosi epatica l'insulino-resistenza nei confronti del metabolismo del glucosio si è sempre associata ad alterazioni del metabolismo dei NEFA dimostrabili sia in condizioni di digiuno, sia di stimolo insulinico (27) e durante la somministrazione di glucosio per os (*oral glucose tolerance test*, OGTT) (37). L'insulino-resistenza dimostrata per il controllo della lipolisi gioca quindi sicuramente un ruolo rilevante nella patogenesi dell'accumulo ectopico di lipidi a livello epatico. I dati ottenuti, anche mediante metodiche con traccianti e loro diluizione nell'organismo *in toto*, suggeriscono che in pazienti con NAFLD il 60% dei trigliceridi intraepatici origina dai NEFA in condizioni di digiuno (38). Gli stessi dati hanno dimostrato che il 26% dei trigliceridi intraepatici origina invece dalla *de novo lipogenesis* (38) e dati di altri gruppi suggeriscono che in pazienti con NAFLD il contributo della *de novo lipogenesis* vs NEFA ri-esterificazione potrebbe essere più importante (39, 40).

## Il grasso ectopico e le alterazioni del metabolismo energetico

### *Muscolo scheletrico*

Molti laboratori hanno riportato dati a supporto dell'ipotesi che l'obesità e il DMT2 siano caratterizzati da un'alterazione del metabolismo ossidativo degli acidi grassi plasmatici e/o muscolari (41-44). Tale alterazione si è dimostrata essere non completamente reversibile, a seguito di una considerevole riduzione ponderale, sia in donne obese (42) sia in pazienti affetti da diabete (44) e la stessa alterazione è stata osservata in individui con intolleranza al carico orale di glucosio (45), prima cioè dell'insorgenza di un diabete franco, suggerendo che il difetto metabolico di ossidazione lipidica possa essere primitivo. Il metabolismo ossidativo dei lipidi può essere però ridotto anche in condizioni acquisite di insulino-resistenza, come nell'uomo con infezione da HIV e con lipodistrofia acquisita associata all'assunzione di terapia antiretrovirale aggressiva (46). In contrapposizione si possono individuare dei modelli

*in vivo* nell'uomo di aumentato utilizzo ossidativo di acidi grassi; abbiamo riportato in passato dati di individui che, malgrado avessero un moderato sovrappeso, si caratterizzavano per una insulino-sensibilità preservata e un contenuto di IMCL comparabile a quello del gruppo di controllo normopeso. L'unica caratteristica metabolica che distingueva questi individui sovrappeso, ma metabolicamente "in forma", era caratterizzata da un'aumentata ossidazione lipidica al mattino a digiuno (47). Anche gli studi che hanno utilizzato un approccio longitudinale hanno confermato un importante ruolo dell'utilizzo ossidativo dei NEFA nel determinare la sensibilità insulinica. Individui obesi che, per esempio, hanno ottenuto un miglioramento della sensibilità insulinica, grazie all'incremento dell'attività fisica, hanno evidenziato che la riduzione dell'insulino-resistenza era proporzionale all'aumento della ossidazione lipidica indotta dall'esercizio fisico e misurata al mattino in condizioni di digiuno (48, 49). Anche i soggetti con un background genetico per DMT2 (figli e/o fratelli di pazienti affetti dalla malattia) hanno evidenziato uno stretto rapporto tra l'insulino-resistenza e il ridotto utilizzo ossidativo di lipidi in condizioni di digiuno; infatti, quando questi individui sono segregati per quartili di ossidazione lipidica, misurata mediante calorimetria indiretta, quelli nei quartili di ossidazione lipidica più bassa sono anche quelli più insulino-resistenti, mentre quelli nel quartile di ossidazione lipidica più elevata sono quelli con insulino-sensibilità preservata (50). Anche in questo modello, quindi, l'alterazione del metabolismo ossidativo dei NEFA potrebbe costituire un fattore primitivo e in questo caso potenzialmente geneticamente determinato. In questi stessi individui, e in particolare in quelli più marcatamente resistenti all'insulina, sono stati eseguiti degli studi di MRS del  $^{31}\text{P}$  volti a valutare il metabolismo energetico nella sede muscolare specifica, invece che nell'organismo *in toto* (calorimetria indiretta). Questi individui insulino-resistenti e con marcato accumulo di trigliceridi intramuscolari erano anche caratterizzati da una ridotta fosforilazione ossidativa mitocondriale e da una ridotta velocità di sintesi di adenosintrifosfato (ATP) muscolare in condizioni di stimolo insulinico (51). L'attività ossidativa enzimatica del muscolo scheletrico di pazienti con DMT2 è stata studiata anche con metodiche *in vitro* e questi esperimenti hanno confermato l'osservazione *in vivo* (52, 53). Sulla base di questi dati, è stato quindi proposto che, alla base dell'alterazione del metabolismo ossidativo dei NEFA, ci possa

essere una disfunzione del metabolismo energetico mitocondriale nel muscolo scheletrico di pazienti affetti da DMT2 (54). Tale alterazione è stata individuata anche in associazione all'invecchiamento e per questo motivo si ritiene che possa essere coinvolta nella patogenesi dell'insulino-resistenza che si riscontra di frequente nelle persone anziane (55). Se la disfunzione mitocondriale fosse primaria, essa potrebbe spiegare sia l'accumulo eccessivo di trigliceridi intramuscolari, sia l'innescarsi di un meccanismo di induzione di insulino-resistenza che si auto-manterrebbe, poi, in maniera autonoma sulla base della produzione eccessiva di *reactive oxygen species* (ROS), a loro volta in grado di indurre un danno mitocondriale, questa volta su base secondaria (56). Rimane aperto il problema relativo al meccanismo molecolare capace di determinare l'alterazione del metabolismo ossidativo degli acidi grassi. A questo riguardo è stato proposto che tale alterazione potrebbe essere dovuta a un background genetico caratterizzato dalla presenza di polimorfismi relativamente comuni nella popolazione del *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR)- $\gamma$  *coactivator-1* (un regolatore trascrizionale di geni coinvolti nella biogenesi mitocondriale e nell'ossidazione lipidica); questo polimorfismo è stato identificato in una popolazione danese (57) e negli indiani Pima (58). A sostegno di un ruolo biologico di questo polimorfismo, è stato più recentemente dimostrato che nel muscolo scheletrico di pazienti affetti da DMT2 esiste una riduzione della espressione dei geni sotto il controllo del sovra descritto PPAR- $\gamma$  *coactivator-1* (59, 60).

### Miocardio

La MRS del  $^{31}\text{P}$  è uno strumento prezioso per studiare in maniera non invasiva il metabolismo dei fosfati ad alta energia (HEP) *in vivo* nell'uomo. Questa metodica può essere attualmente utilizzata per lo studio del metabolismo degli HEP della parte anteriore del miocardio in diverse popolazioni di individui, come recentemente riassunto nell'articolo di Neubauer (61) e come suggerito da autori sia nord-americani (62) sia europei (63). Le ratio fosfocreatina (PCr)/ATP, fosforo inorganico (Pi)/ATP e PCr/Pi sono i marker metabolici più importanti descritti in letteratura che possono essere determinati mediante questa metodica. Queste ratio rappresentano il potenziale energetico del miocardio.

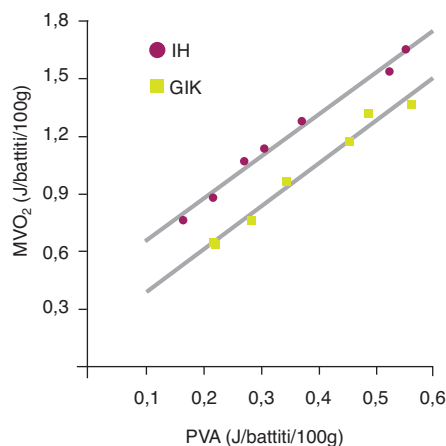
In studi eseguiti *in vivo* nell'uomo la ratio PCr/ATP è quella utilizzata più spesso come indicatore del metabolismo energetico del miocardio (59, 64). Una riduzione

ne del valore assoluto di tale ratio è stata descritta in individui con cardiomegalia congenita, malattie congenite muscolari e con impatto anche a livello cardiaco, come le distrofie muscolari, l'amiloidosi e il beri-beri cardiaco (62). Il DMT2, ma anche il sovrappeso/obesità, sono associati ad alterazioni del metabolismo energetico del ventricolo sinistro. Queste alterazioni, nei pazienti con DMT2, sono presenti a dispetto del fatto che non siano ancora evidenti alterazioni funzionali degne di nota (65) o disfunzione diastolica (66) del ventricolo sinistro. Anche in pazienti con diabete di tipo 1 (DMT1) e insufficienza renale terminale (secondaria alla nefropatia diabetica) è possibile riscontrare un'alterazione profonda del metabolismo energetico del ventricolo sinistro e il trapianto combinato di rene e pancreas, curando sia l'insufficienza renale sia il diabete, migliora significativamente tale alterazione (67). I dati di questi studi supportano l'ipotesi secondo la quale l'iperglicemia cronica gioca un ruolo cruciale nella patogenesi dell'alterazione del metabolismo energetico del ventricolo sinistro. Ciononostante gli individui inclusi in questi studi erano soggetti di 52-57 anni nei quali il DMT2 era stato diagnosticato da 1 (66) a 3 (65) anni prima o con un durata del DMT1 di decenni (67). È ovvio, quindi, che le alterazioni del metabolismo energetico del miocardio potevano essere dovute allo stato di iperglicemia cronica ma anche essere secondarie, almeno in parte, alle alterazioni metaboliche che tipicamente caratterizzano anche le condizioni di cosiddetto "prediabete". Abbiamo infatti recentemente dimostrato che in individui non diabetici sovrappeso o con obesità, il metabolismo energetico del ventricolo sinistro era ridotto a dispetto della completa assenza di alterazioni di funzione in condizioni di riposo (68). Le alterazioni metaboliche del ventricolo sinistro nei pazienti diabetici potrebbero essere in parte secondarie anche a quelle che si accompagnano all'insulino-resistenza. In termini fisiopatologici manca la dimostrazione che il legame tra alterazione del metabolismo energetico e insulino-resistenza possa essere mediato dall'eccessivo flusso dei NEFA o dall'eccessivo accumulo di grasso ectopico; solo recentemente è stato dimostrato che in soggetti obesi con intolleranza al carico orale di glucosio e in pazienti con DMT2 manifesto i trigliceridi cardiaci sono significativamente aumentati (69). Sulla base dell'ipotesi che un aumentato flusso di NEFA o comunque un aumentato utilizzo ossidativo di NEFA a livello del miocardio possa avere effetti deleteri, sono stati generati, dal nostro gruppo e da altri, degli studi

in individui affetti da insufficienza cardiaca i quali nel medio termine (3 mesi), se trattati con inibitori parziali dell'ossidazione degli acidi grassi (trimetazidina), manifestavano un miglioramento della classe di appartenenza NYHA e dei parametri di funzionalità sistolica. Questi miglioramenti erano osservabili in parallelo a un incremento della ratio PCr/ATP in condizioni di riposo, a indicare un effetto benefico sul metabolismo energetico del ventricolo sinistro (70). Questi effetti benefici dell'inibizione dell'utilizzo ossidativo dei NEFA sono stati confermati anche da studi nel breve termine in pazienti con malattia coronarica. In questi soggetti la somministrazione di trimetazidina 24 ore prima dell'esecuzione di uno stress fisico strutturato sul *treadmill*, secondo protocollo di Bruce dopo un digiuno di 8 ore o dopo la somministrazione di un pasto ricco in carboidrati o grassi, ha indotto un effetto benefico (tempo al sottoslivellamento di 1-mm dell'ST e dello *stress wall motion score index*, WMSI) rispetto ai pazienti che avevano assunto placebo e questo effetto era indipendente dalla composizione del pasto (71). Questi dati prodotti dal nostro gruppo suggeriscono, quindi, che il miglioramento del metabolismo energetico in associazione a quello della funzione del ventricolo sinistro possa essere imputato al fatto che i miocardiociti utilizzino più efficacemente il glucosio come combustibile energetico a discapito dei NEFA, il cui impiego è stato modulato al ribasso dalla terapia farmacologica (Figura 5) (72). A conferma di questa ipotesi, un altro studio nel quale è stato utilizzato un diverso strumento farmacologico, un farmaco antianginoso che inibisce reversibilmente l'*uptake* mitocondriale dei NEFA tramite l'inibizione della carnitina palmitoil-transferasi (CPT)-1 e CPT-2, e virando quindi l'utilizzo ossidativo di substrati da acidi grassi a glucosio, ha indotto un miglioramento della  $VO_{2max}$ , della frazione di eiezione, dei sintomi e della funzione sia a riposo sia durante stress in pazienti con insufficienza cardiaca (73). Questi dati richiedono conferme in diverse condizioni sperimentali. Per esempio, sulla base della stessa ipotesi, altri autori (74) hanno eseguito l'esperimento opposto su una casistica di pazienti con insufficienza cardiaca. Tali autori hanno somministrato acipimox, che ha ridotto i livelli circolanti di NEFA, aspettandosi un miglioramento di parametri di efficienza cardiaca (misurati per mezzo di metodiche in PET, *positron emission tomography* e con utilizzo di isotopi quali [ $^{15}O$ ]- $H_2O$ , [ $^{11}C$ ]-acetato e [ $^{11}C$ ]-palmitato). Al contrario, è stato osservato che l'efficienza miocardica era ridotta, suggerendo



Figura 5 **Substrati e metabolismo energetico del miocardio**



Il metabolismo energetico del miocardio sembra essere influenzato dalla disponibilità dei substrati energetici. In questo esperimento eseguito in cuori di maiale si è dimostrato che a parità di lavoro meccanico prodotto, il ventricolo sinistro consuma più ossigeno se il substrato utilizzato sono lipidi piuttosto che carboidrati (72). GIK = glucosio+insulina+K; IH = intralipid+eparina; PVA = area pressione-volume; MVO<sub>2</sub> = consumo miocardico di ossigeno

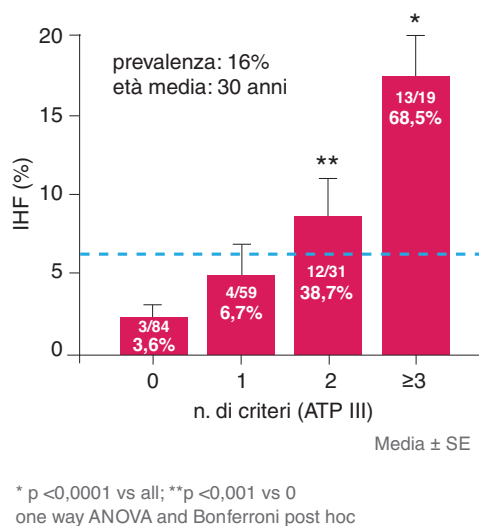
che le richieste energetiche del miocardio potrebbero basarsi sul metabolismo ossidativo dei NEFA più di quanto immaginato e che sia i NEFA sia il glucosio sono necessari per un metabolismo ottimale del miocardio di individui con insufficienza cardiaca.

### Fegato

La steatosi epatica si associa sicuramente ad alterazioni del metabolismo ossidativo degli acidi grassi a livello di diverse vie metaboliche (75). Non può essere escluso che un difetto del metabolismo ossidativo dei NEFA possa essere implicato anche a livello epatico ma i dati a riguardo sono abbastanza controversi (75). In generale abbiamo osservato che in pazienti affetti da DMT1 (76), negli adolescenti obesi (32) e in soggetti con NAFLD modestamente sovrappeso (77), l'ossidazione lipidica nell'organismo *in toto*, determinata mediante calorimetria indiretta, si caratterizza con *pattern* di accumulo intraepatico di lipidi poco riproducibile. Abbiamo anche recentemente riportato che il livello di attività fisica abituale si associa strettamente al contenuto intraepatico di lipidi, a sostegno dell'ipotesi secondo la quale l'esercizio fisico può avere un effetto sulla steatosi, indipendentemente dall'insulino-resistenza (Figura 6) (78). È necessario, una volta di più, enfatizzare il fatto che questi dati si sono basati su

determinazioni in calorimetria indiretta e quindi a riflettere condizioni metaboliche non specifiche del fegato, ma dell'organismo *in toto*. Dati specifici a livello epatico sono stati recentemente riportati da Iozzo et al. (79) in pazienti con intolleranza al carico orale di glucosio e con tutte le caratteristiche tipiche della sindrome metabolica, inclusi il sovrappeso, la dislipidemia (elevati trigliceridi e ridotto colesterolo-HDL), l'iperinsulinemia, l'insulino-resistenza e una modesta ipertensione arteriosa. Questo studio ha riportato una ridotta capacità del fegato di estrarre NEFA dal torrente circolatorio. Gli autori hanno poi speculato che in condizioni di digiuno la  $\beta$ -ossidazione è la prima via di utilizzo metabolico dei NEFA e che quindi la ridotta estrazione dei NEFA dal circolo è dipendente dall'inefficienza della via metabolica di utilizzo ossidativo. In contrasto con questo studio, Misu et al. (80) hanno recentemente riportato dati di espressione genica ottenuti da biopsie epatiche di fegati di pazienti affetti da DMT2. Geni coinvolti nel metabolismo ossidativo mitocondriale (OXPHOS) sono stati infatti riportati come up-regolati. Questi risultati potrebbero indicare un comportamento del fegato in pazienti insulino-resistenti diametralmente opposto rispetto a quello del muscolo scheletrico e del cuore. È possibile che il cuore

Figura 6 **Steatosi epatica e sindrome metabolica**



La prevalenza di steatosi epatica in una popolazione di individui che lavorano all'Istituto Scientifico San Raffaele di Milano con età media di 30 anni, body mass index (BMI) medio di 24 kg/m<sup>2</sup> è del 16% ed è estremamente frequente (70%) negli individui nei quali è possibile diagnosticare la sindrome metabolica utilizzando i criteri ATP III (78). IHF = contenuto intraepatico di trigliceridi

possa “compensare” all’accumulo ectopico incrementando la  $\beta$ -ossidazione, anche se poi ciò potrebbe non essere sufficiente a inibire l’insorgenza di steatosi epatica. Altri studi saranno necessari per chiarire questo problema e a questo riguardo l’applicazione della  $^{31}\text{P}$ -MRS allo studio del fegato (81) potrebbe risultare di estrema utilità.

## Conclusioni

L’eccessivo accumulo ectopico di trigliceridi può avere una rilevanza diretta per lo sviluppo di alterazioni della regolazione di vie metaboliche controllate dall’insulina a livello di diversi organi e tessuti nel diabete e in patologie metaboliche associate a insulino-resistenza. Si ritiene che un flusso esagerato di NEFA dal tessuto adiposo verso gli organi e tessuti periferici, quali il muscolo scheletrico, il fegato, il cuore e le  $\beta$ -cellule possa essere l’evento responsabile dell’eccessivo accumulo intracellulare di trigliceridi. È molto importante esplorare anche la possibilità che alterazioni del metabolismo energetico (fosforilazione ossidativa e alterazioni del metabolismo della creatin fosfato e ATP) e di quello ossidativo dei NEFA a livello locale, primitive o secondarie all’insulino-resistenza, possano essere coinvolte. A tutt’oggi, il problema dello *spill-over* dei NEFA rimane aperto nonostante la possibilità di ridurre l’insulino-resistenza indotta dall’eccesso di NEFA per mezzo dell’utilizzo di farmaci come i tiazolidinedioni che per questo motivo hanno e tutt’ora ricevono notevole interesse scientifico. Se venissero dimostrate anomalie del metabolismo energetico a livello dei singoli organi e tessuti in associazione all’accumulo ectopico di lipidi, dovranno essere profuse nuove energie per sviluppare e/o identificare *ex novo* strumenti terapeutici atti a regolare il metabolismo energetico e il potenziale ossidativo in tali distretti anche prima dell’insorgenza del diabete. Appare comunque evidente che il comportamento metabolico dei singoli distretti è estremamente eterogeneo in risposta alla lipotossicità e rimane da chiarire l’importanza del contributo di questi singoli organi al metabolismo energetico dell’organismo *in toto*.

## Ringraziamenti

Ringrazio Livio Luzi che da sempre mi ha permesso di poter eseguire della ricerca di buon livello, e con il quale sto anco-

ra lavorando a tutt’oggi. Devo ringraziare Guido Pozza che mi ha dato sin dall’inizio la possibilità di lavorare in un ambiente stimolante e competitivo. Ringrazio Alessandro Del Maschio con il quale abbiamo applicato l’utilizzo delle metodiche di risonanza magnetica in spettroscopia. Voglio ringraziare Gerald I Shulman per il suo aiuto durante la mia postdoc fellowship alla Yale University. Devo ringraziare tutti coloro che hanno contribuito alla ricerca: Guido Lattuada, Francesca Ragogna, Federica Costantino, Pamela Senesi, Lucia Piceni Sereni, Antonella Scollo, Elisabetta Devecchi, Paola Scifo, Tamara Canu, Antonio Esposito, Francesco De Cobelli, Andrea Caumo, Stefano Benedini, Giliola Calori, Lorenzo Piemonti, Gianpaolo Zerbini, Ilena Terrazzi, Gabriele Fragasso, Paola Maffi, Paolo Fiorina, Antonio Secchi, Riccardo Bonfanti, Serena Magni, Giampietro Alberti e Giuliano Pizzini nonché Alberto Battezzati, Roberto Lanzi, Sabrina Oggionni, Georgia Ntali, Agata Burska, Chiara Gremizzi, Francesca De Taddeo, Elena Belloni, Emanuela Pagliato, Roberto Spoladore, Massimo Danna, Adriana Leao, Marianna Caloni, Annalisa Fattorini, Elena Meneghini, Dora Ruggieri, Vincenzo Mazzaferro, Enrico Regalia, Michael Roden, Gary W Cline, Kitt F Petersen, Douglas L Rothman.

## Bibliografia

1. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 104: 787–794, 1999.
2. De Fronzo RA. The triumvirate beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 37: 667–687, 1988.
3. McGarry JD. What if Minkowski had been ageusic? An alternative angle on diabetes. *Science* 258: 766–770, 1992.
4. McGarry JD. Dysregulation of fatty acids metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Banting Lecture 2001. Diabetes* 51: 7–18, 2002.
5. Reaven GM. The fourth musketeer – from Alexandre Dumas to Claude Bernard. *Diabetologia* 38: 3–13, 1995.
6. Perseghin G, Ghosh S, Gerow K, Shulman GI. Metabolic defects in lean nondiabetic offspring of NIDDM parents. A cross-sectional study. *Diabetes* 46: 1001–1009, 1997.
7. Shulman GI, Rothman DL, Jue T, et al. Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. *N Engl J Med* 322: 223–228, 1990.
8. Roden M, Price TB, Perseghin G, et al. Mechanism of free fatty acid induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest* 97: 2859–2865, 1996.
9. Perseghin G, Price TB, Petersen KF, et al. Increased glucose transport/phosphorylation and muscle glycogen synthesis after exercise training in insulin resistant subjects. *N Engl J Med* 335: 1357–1362, 1996.

10. Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, et al. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: A  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy study. *Diabetologia* 42: 113–116, 1999.
11. Perseghin G, Scifo P, De Cobelli F, et al. Intramyocellular triglyceride content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: A  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents. *Diabetes* 48: 1600–1606, 1999.
12. Jacob S, Machann J, Rett K, et al. Association of increased intramyocellular lipid content with insulin resistance in lean nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 48: 1113–1119, 1999.
13. Perseghin G, Lattuada G, Danna M, et al. Insulin resistance, intramyocellular lipid content and plasma adiponectin concentrations in patients with type 1 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285: E1174–E1181, 2003.
14. Greco AV, Mingrone G, Giancaterini A, et al. Insulin resistance in morbid obesity. Reversal with intramyocellular fat depletion. *Diabetes* 51: 144–151, 2002.
15. Thamer C, Machann J, Bachmann O, et al. Intramyocellular lipids: Anthropometric determinants and relationships with maximal aerobic capacity and insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 1785–1791, 2003.
16. Perseghin G, Scifo P, Pagliato E, et al. Gender factors affect fatty acids-induced insulin resistance in nonobese humans: Effects of oral steroidal contraception. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 3188–3196, 2001.
17. Perseghin G, Comola M, Scifo P, et al. Postabsorptive and insulin-stimulated energy and protein metabolism in patients with Myotonic Dystrophy type 1. *Am J Clin Nutr* 80: 357–364, 2004.
18. Szczepaniak LS, Dobbins RL, Metzger GJ, et al. Myocardial triglycerides and systolic function in humans: In vivo evaluation by localized proton spectroscopy and cardiac imaging. *Magn Reson Med* 49: 417–423, 2003.
19. Reingold JS, McGavock JM, Kaka S, et al. Determination of triglyceride in the human myocardium using magnetic resonance spectroscopy: Reproducibility and sensitivity of the method. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289: E935–939, 2005.
20. van der Meer RW, Hammer S, Smit JW, et al. Short term caloric restriction induces accumulation of myocardial triglycerides and decreases left ventricular diastolic function in healthy subjects. *Diabetes* 2007 Aug 23; [Epub ahead of print].
21. McGavock JM, Victor RG, Unger RH, Szczepaniak LS. Adiposity of the heart, revisited. *Ann Intern Med* 144: 517–524, 2006.
22. Kankaanpaa M, Lehto H-R, Parkka JP, et al. Myocardial triglyceride content and epicardial fat mass in human obesity: Relationship to left ventricular function and serum free fatty acid levels. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 4689–4695, 2006.
23. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, et al. Left ventricular energy metabolism is impaired and the intrapericardial and mediastinal fat is increased in young, non-diabetic men with newly found fatty liver. *Hepatology* DOI: 10.1002/hep.21983, 2008.
24. Sharma S, Adroque JV, Golfman L, et al. Intramyocardial lipid accumulation in the failing human heart resembles the lipotoxic rat heart. *FASEB J* 18: 1692–1700, 2004.
25. Marchington JM, Mattacks CA, Pond CM. Adipose tissue in the mammalian heart and pericardium: Structure, foetal development and biochemical properties. *Comp Biochem Physiol B* 94: 225–232, 1989.
26. Iacobellis G, Corradi D, Sharma AM. Epicardial adipose tissue: Anatomic, biomolecular and clinical relationships with the heart. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2: 536–543, 2005.
27. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: A feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 50: 1844–1850, 2001.
28. Kelley DE, McKolanis TM, Hegazi RA, et al. Fatty liver in type 2 diabetes mellitus: Relation to regional adiposity, fatty acids, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285: E906–E916, 2003.
29. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 37: 917–923, 2003.
30. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, et al. Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycaemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 54: 603–608, 2005.
31. Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Hakkinen AM, et al. Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free fatty acids independent of obesity in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 3023–3028, 2002.
32. Perseghin G, Bonfanti R, Magni S, et al. Insulin resistance and whole body energy homeostasis in obese adolescents with fatty liver disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291: E697–E703, 2006.
33. Brechtel K, Dahl DB, Machann J, et al. Fast elevation of the intramyocellular lipid content in the presence of circulating free fatty acids and hyperinsulinemia: A dynamic  $^1\text{H}$ -MRS study. *Magn Reson Med* 45: 179–183, 2001.
34. Bachmann OP, Dahl DB, Brechtel K, et al. Effects of intravenous and dietary lipid challenge on intramyocellular lipid content and the relation with insulin sensitivity in humans. *Diabetes* 50: 2579–2584, 2001.
35. Poynten AM, Gan SK, Kriketos AD, et al. Nicotinic acid-induced insulin resistance is related to increased circulating fatty acids and fat oxidation but not muscle lipid content. *Metabolism* 52: 699–704, 2003.
36. Belfort R, Harrison SA, Brown K, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 355: 2297–2307, 2006.
37. Holt HB, Wild SH, Wood PJ, et al. Non-esterified fatty acid concentrations are independently associated with hepatic steatosis in obese subjects. *Diabetologia* 49: 141–148, 2006.
38. Donnelly KL, Smith CI, Schwarzberg SJ, et al. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 115: 1343–1351, 2005.
39. Diraison F, Moulin P, Beylot M. Contribution of hepatic de novo lipogenesis and reesterification of plasma non esterified fatty acids to plasma triglyceride synthesis during nonalcoholic fatty liver disease. *Diabet Metab* 29: 478–485, 2003.
40. Utzschneider KM, Kahn SE. The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 4753–4761, 2006.

41. Colberg SR, Simoneau JA, Thaete FL, Kelley DE. Skeletal muscle utilization of free fatty acids in women with visceral obesity. *J Clin Invest* 95: 1846–1853, 1995.
42. Kelley DE, Goodpaster B, Wing RR, Simoneau JA. Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity and weight loss. *Am J Physiol Endocrinol and Metab* 277: E1130–E1141, 1999.
43. Blaak EE, Wagenmakers AJM, Glatz JFC, et al. Plasma FFA utilization and fatty acid-binding protein content are diminished in type 2 diabetic muscle. *Am J Physiol Endocrinol and Metab* 279: E146–E154, 2000.
44. Blaak EE, Wolffenbuttel BH, Saris WH, et al. Weight reduction and the impaired plasma-derived free fatty acid oxidation in type 2 diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 1638–1644, 2001.
45. Mensink M, Blaak EE, van Baak MA, et al. Plasma free Fatty Acid uptake and oxidation are already diminished in subjects at high risk for developing type 2 diabetes. *Diabetes* 50: 2548–2554, 2001.
46. Luzi L, Perseghin G, Tambussi G, et al. Intramyocellular lipid accumulation and reduced whole body lipid oxidation in HIV infected patients with lipodystrophy. *Am J Physiol Endocrinol and Metab* 284: E274–E280, 2003.
47. Perseghin G, Scifo P, Danna M, et al. Normal insulin sensitivity and IMCL content in overweight humans are associated with higher fasting lipid oxidation. *Am J Physiol Endocrinol and Metab* 283: E556–E564, 2002.
48. Goodpaster BH, Katsiaras A, Kelley DE. Enhanced fat oxidation through physical activity is associated with improvements in insulin sensitivity in obesity. *Diabetes* 52: 2191–2197, 2003.
49. Gan SK, Kriketos AD, Ellis BA, et al. Changes in aerobic capacity and visceral fat but not myocyte lipid levels predict increased insulin action after exercise in overweight and obese men. *Diabetes Care* 26: 1706–1713, 2003.
50. Lattuada G, Costantino F, Caumo A, et al. Reduced whole body lipid oxidation is associated with insulin resistance but not with intramyocellular lipid content in offspring of type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 48: 741–747, 2005.
51. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, et al. Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 350: 664–671, 2004.
52. He J, Watkins S, Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and oxidative enzyme activity in relation to muscle fiber type in type 2 diabetes and obesity. *Diabetes* 50: 817–823, 2001.
53. Gaster M, Rustan AC, Aas V, Beck-Nielsen H. Reduced lipid oxidation in skeletal muscle from type 2 diabetic subjects may be of genetic origin. Evidence from cultured myotubes. *Diabetes* 53: 542–548, 2004.
54. Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB. Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 51: 2944–2950, 2002.
55. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, et al. Mitochondrial dysfunction in the elderly: Possible role in insulin resistance. *Science* 300: 1140–1142, 2003.
56. Schrauwen P, Hesselink MKC. Oxidative capacity, lipotoxicity, and mitochondrial damage in type 2 diabetes. *Diabetes* 53: 1412–1417, 2004.
57. Ek J, Andersen G, Urhammer SA, et al. Mutation analysis of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 (PGC-1) and relationships of identified amino acid polymorphisms to Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 44: 2220–2226, 2001.
58. Muller YL, Bogardus C, Beamer BA, et al. A functional variant in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 promoter is associated with predictors of obesity and type 2 diabetes in Pima Indians. *Diabetes* 52: 1864–1871, 2003.
59. Mootha VK, Lindgren CM, Eriksson KF, et al. PGC-1alpha-responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nat Genet* 34: 267–273, 2003.
60. Patti ME, Butte AJ, Crunkhorn S, et al. Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: Potential role of PGC1 and NRF1. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 8466–8471, 2003.
61. Neubauer S. Mechanisms of disease: The failing heart – an engine out of fuel. *N Engl J Med* 356: 1140–1151, 2007.
62. Bottomley PA. MR Spectroscopy or the Human Heart: The Status and the Challenges. *Radiology* 191: 593–612, 1994.
63. Beyerbach HP, Vliegen HV, Lamb HJ, et al. Phosphorus magnetic resonance spectroscopy of the human heart: Current status and clinical implications. *Eur Heart J* 17: 1158–1166, 1996.
64. Forder JR, Pohost GM. Cardiovascular nuclear magnetic resonance: Basic and clinical applications. *J Clin Invest* 111: 1630–1639, 2003.
65. Scheuermann-Freestone M, Madsen PL, Manners D, et al. Abnormal cardiac and skeletal muscle energy metabolism in patients with type 2 diabetes. *Circulation* 107: 3040–3046, 2003.
66. Diamant M, Lamb HJ, Groeneveld Y, et al. Diastolic dysfunction is associated with altered myocardial metabolism in asymptomatic normotensive patients with well-controlled type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 42: 328–335, 2003.
67. Perseghin G, Fiorina P, De Cobelli F, et al. Cross-sectional assessment of the effect of kidney and kidney-pancreas transplantation on resting left ventricular energy metabolism in type 1 diabetic-uremic patients: a <sup>31</sup>P-MRS study. *J Am Coll Cardiol* 46: 1085–1092, 2005.
68. Perseghin G, Ntali G, De Cobelli F, et al. Abnormal left ventricular energy metabolism in obese men with preserved systolic and diastolic functions is associated with insulin resistance. *Diabetes Care* 30: 1520–1527, 2007.
69. McGavock JM, Lingvay I, Zib I, et al. Cardiac steatosis in diabetes mellitus: A <sup>1</sup>H-magnetic resonance spectroscopy study. *Circulation* 116: 1170–1175, 2007.
70. Fragasso G, Perseghin G, De Cobelli F, et al. Effects of metabolic modulation by trimetazidine on left ventricular function and phosphocreatine/adenosine triphosphate ratio in patients with heart failure. *Eur Heart J* 27: 942–948, 2006.
71. Fragasso G, Montano C, Perseghin G, et al. Reduction of ischemic threshold in patients with stable coronary disease after meals of different composition: Effects of partial inhibition of fatty acids oxidation. *Am Heart J* 151: 1238.e1–1238.e8, 2006.
72. Korvald C, Petter Elvenes O, Myrmet T. Myocardial substrate metabolism influences left ventricular energetics in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278: H1345–H1351, 2000.
73. Lee L, Campbell R, Scheuermann-Freestone M, et al. Metabolic modulation with perhexiline in chronic heart failure. A random-

- ized, controlled trial of short-term use of a novel treatment. *Circulation* 112: 3280–3288, 2005.
74. Tuunanen H, Engblom E, Naum A, et al. Free fatty acid depletion acutely decreases cardiac work and efficiency in cardiomyopathic heart failure. *Circulation* 114: 2130–2137, 2006.
75. Begrich K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: Causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion* 6: 1–28, 2006.
76. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, et al. Reduced intra-hepatic fat content is associated with increased whole body lipid oxidation in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 48: 2615–2621, 2005.
77. Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E, et al. Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: Sites and mechanisms. *Diabetologia* 48: 634–642, 2005.
78. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, et al. Habitual physical activity is associated with the intra-hepatic fat content in humans. *Diabetes Care* 30: 683–688, 2007.
79. Iozzo P, Turpeinen AK, Takala T, et al. Defective liver disposal of free fatty acids in patients with impaired glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 3496–3502, 2004.
80. Misu H, Takamura T, Matsuzawa N, et al. Genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately upregulated with fasting hyperglycaemia in livers of patients with type 2 diabetes. *Diabetologia* 50: 268–277, 2007.
81. Schmid AI, Chmelik M, Szendroedi J, et al. Quantitative ATP synthesis in human liver measured by localized <sup>31</sup>P spectroscopy using the magnetization transfer experiment. *NMR Biomed* (2007) Published online in Wiley InterScience DOI: 10.1002/nbm.1207.

---

*Lettura tenuta in occasione di Panorama Diabete - Forum Nazionale della Società Italiana di Diabetologia (SID), Riccione, 7-10 ottobre 2007*

