

# La regolazione neuroendocrina del metabolismo

## Il “sensing” dei nutrienti

Gianluca Perseghin

Medicina Interna, Sezione di Nutrizione/Metabolismo & Unità di Spettroscopia Clinica, Istituto Scientifico H San Raffaele, Milano

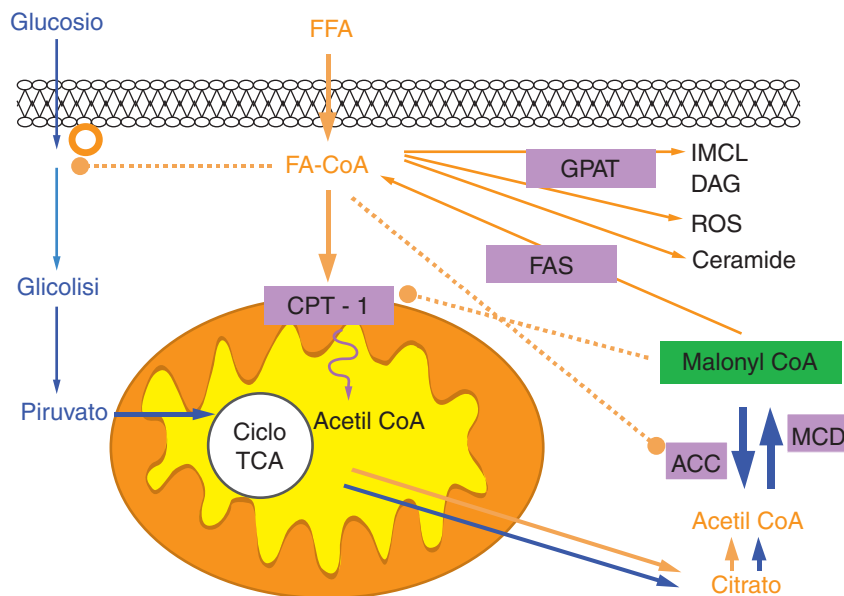
L'obesità è il risultato dell'alterazione del bilancio tra dispendio energetico e assunzione di energia. Una aumentata assunzione di nutrienti determina l'attivazione di complessi meccanismi regolatori che attivano una appropriata risposta di tipo comportamentale e metabolica che si caratterizza per una riduzione dell'assunzione di cibo e per un aumento della dissipazione di energia allo scopo di mantenere la stabilità dell'omeostasi metabolica e della massa corporea. I “sensori” dell'eccesso di nutrienti si localizzano sia a livello dei tessuti periferici sia a livello del sistema nervoso centrale (SNC). Le vie metaboliche che potenzialmente possono essere implicate nel “sensing” dei nutrienti sono diverse; una di queste è quella che presiede alla regolazione del metabolismo del Malonil CoA e degli acidi grassi a lunga catena intracellulari (LCFA CoA). Essa viene indiziata nel costituire il “sensing” cellulare dei nutrienti ed esistono ipotesi patogenetiche relative al suo malfunzionamento come causa di obesità e di accumulo ectopico di grasso nel tessuto non-adiposo che costituirebbero a loro volta i mediatori dell'insorgenza dell'insulino-resistenza nell'organismo *in toto*.

### *Il sistema Malonil CoA/LCFA CoA nei tessuti periferici, sue alterazioni e impatto sull'insulino-resistenza*

McGarry ha suggerito per primo che il Malonil CoA possa essere il sensore biochimico implicato nella regolazione reciproca dell'utilizzo ossidativo del glucosio e degli acidi grassi (1). Il Malonil CoA rappresenta sia un metabolita intermedio della via metabolica della *de novo* sintesi degli acidi grassi sia un potente inibitore allosterico della carnitina-palmitoiltransferasi-1 (CPT-1). La CPT-1 è l'enzima che controlla il trasferimento degli

LCFA dal citoplasma al mitocondrio, dove essi vengono ossidati (Figura 1). Esso costituisce, quindi, il crocevia metabolico sul quale può essere esercitato il controllo che regola l'utilizzo/deposito degli acidi grassi nella cellula. La concentrazione intracellulare del Malonil CoA è regolata acutamente da modificazioni della spesa energetica (esercizio o inattività fisica) e dalla disponibilità dei nutrienti (eccesso o deprivazione di glucosio e FAs) (2). Fondamentalmente esso è regolato dall'attività relativa degli enzimi Acetil CoA carbossilasi (ACC; esso è presente in 2 isoforme, ACC<sub>1</sub> e ACC<sub>2</sub>, rispettivamente epatica e muscolare) e dalla Malonil CoA decarbossilasi (MCD). L'ACC è un enzima che genera il Malonil CoA necessario per la *de novo* sintesi di FAs a partire dall'Acetil CoA mentre l'MCD è l'enzima che catalizza la reazione inversa. In condizioni di abbondanza di nutrienti, l'aumentato flusso di glucosio nella via metabolica glicolitica e di FAs nella via  $\beta$ -ossidativa induce un aumento del citrato intramitocondriale (come metabolita intermedio del ciclo degli TCA) e citoplasmatico il quale in qualità di effettore allosterico positivo della ACC indurrà un aumento della concentrazione citoplasmatica di Malonil CoA. A sua volta l'accumulo intracitoplasmatico del Malonil CoA costituirà una formidabile inibizione dell'attività della CPT-1 riducendo quindi l'ingresso dei LCFA CoA nel mitocondrio e quindi una riduzione del loro utilizzo ossidativo. In Tabella 1 sono riassunti i dati di concentrazione intracellulare di questi metaboliti in condizioni di insulino-resistenza e di insulino-resistenza indotta acutamente in modelli murini e nell'uomo. Una situazione del tutto simile si può determinare a livello muscolare anche in condizioni di ridotta attività fisica, quando cioè i livelli di citrato intracellulare a causa del ridotto dispendio energetico si accumulano abbastanza

Figura 1 Il sensore LCFA CoA/Malonil CoA



CPT-1: carnitina-palmitoiltransferasi-1; ACC: Acetil CoA carbossilasi; MCD: Malonil CoA decarbossilasi; FAS: sintesi degli acidi grassi; GPAT: glicerolo-3-fosfato acil transferasi; IMCL: trigliceridi intramitochondriali; DAG: diacilglicerolo; ROS: reactive oxygen species.

rapidamente nel citosol. A questo punto l'accumulo intracitoplasmatico di LCFA CoA, amplificato dalle alte concentrazioni di Malonil CoA precursore della *de novo* sintesi di acidi grassi via FAS, è disponibile per la sintesi di trigliceridi, diacil glicerolo (DAG) via GPAT (3), nonché di ceramide e ROS mediatori dell'insulino-resistenza a livello muscolare, epatico ed endoteliale. L'eccesso intracitoplasmatico di LCFA CoA viene inoltre ritenuto responsabile della riduzione del trasporto intracellulare di glucosio grazie all'inibizione del siste-

ma IRS1/PI-3-kinase (4). L'eccesso di nutrienti induce quindi le cellule dei tessuti periferici a ridurre il metabolismo ossidativo e a ridistribuirne l'utilizzo verso le vie metaboliche non ossidative di deposito ed accumulo. Al contrario, in carenza di substrati energetici o durante l'attività fisica, il fabbisogno energetico sarà aumentato allo scopo di mantenere adeguati livelli di energia con una conseguente riduzione dei livelli intracellulari di citrato. Il sistema si troverà in una condizione speculare in cui i livelli di Malonil CoA precipiteranno togliendo il freno inibitore sulla CPT-1 che trasporterà attivamente LCFA CoA dal citoplasma alla matrice mitocondriale dove verranno ossidati. Come accade a livelli di diversi organi e tessuti a seguito di interventi come quelli riassunti nella Tabella 2. La riduzione dei livelli intracellulari di Malonil CoA/LCFA CoA indurrà una riduzione della sintesi di trigliceridi tissutali, DAG, ceramide, ROS *de novo* FAs sintesi e stimolerà, inoltre, il trasporto e metabolismo del glucosio. Un sistema cellulare periferico (cellula muscolare o epatica), quindi, si adatta e si difende da un eccesso di nutrienti disponibili innescando dei meccanismi che, in ultima analisi, paradossalmente riducono il metabolismo ossidativo e stimolano l'efficienza del loro deposito. Questo "fuel sensing" delle cellule dei tessuti perife-

Tabella 1 Concentrazioni intramitochondriali di metaboliti in condizioni di insulino-resistenza

Modello	IMCL	DAG	Malonil CoA
Ratto fa/fa	+	+	+
Ratto glucosio-infuso	+	+	+
Ratto fat-fed	+	+	+/-
Uomo fat-infused	+	+	+
Uomo obeso	+	?	?

Molti di questi dati sono qualitativamente riproducibili a livello epatico. IMCL: trigliceridi intramuscolari; DAG: diacilglicerolo. Adattato da ref 2

Tabella 2 **Effetto di interventi terapeutici sui livelli di Malonil-CoA intracellulare nei diversi tessuti**

Intervento	Insulino-resistenza muscolare	Disfunzione $\beta$ -cellulare	Disfunzione endoteliale	CAD	NAFLD/NASH
Esercizio	–	?	–	–	–
Dieta	–	–	–	–	–
Adiponectina	–	–	–	–	–
Leptina	–	–	–	?	–
AICAR	–	–	–	?	?
Metformina	–	–	–	–	–
TZDs	–	–	–	–	–

rici basato sul sistema Malonil CoA/LCFA CoA costituisce un ragionevole supporto alla "thrifty gene hypothesis" proposta da Neel (5) secondo la quale questa efficienza dei sistemi metabolici periferici ad immagazzinare l'energia in eccesso ha costituito durante i periodi di carenza di nutrienti un vantaggio per la sopravvivenza nelle società ancestrali che dovevano far fronte a frequenti e prolungati periodi di carestia.

### *Il sistema Malonil CoA/LCFA CoA nella $\beta$ -cellula, sue alterazioni e impatto sul diabete mellito di tipo 2*

È possibile che il sistema Malonil CoA/LCFA CoA sia il sensore dei nutrienti anche a livello  $\beta$ -cellulare (6) e potrebbe inoltre costituire il principale modulatore della secrezione insulinica. In condizioni fisiologiche normali, l'aumentata disponibilità di glucosio in condizioni post-prandiali induce un aumento del flusso di glucosio nella via metabolica della glicolisi. Come rappresentato in Figura 1 per le cellule periferiche (muscolari ed epatiche), l'aumento della concentrazione intracellulare di citrato induce un aumento dei livelli di Malonil CoA citoplasmatico che inibendo l'attività della CPT-1 inibisce di fatto l'utilizzo ossidativo degli acidi grassi nella via  $\beta$ -ossidativa a livello mitocondriale. L'accumulo conseguente di LCFA CoA citoplasmatico costituirebbe il segnale metabolico responsabile dell'induzione di processi cellulari coinvolti nei meccanismi di regolazione dell'esocitosi e quindi della secrezione insulinica (7). L'importanza dell'effetto regolatore e amplificatore sulla secrezione insulinica del segnale lipidico intracellulare è ormai dimostrato e

recentemente sembra modulare non solo lo stimolo indotto dai nutrienti (glucosio, FFA, leucina, glutamina, arginina) ma anche quello indotto da stimoli "non-nutrienti" (GLP-1, carbacolo, KCl) sinergizzando la propria attività con quella delle classiche vie metaboliche regolatorie della secrezione insulinica (8). È quindi ipotizzabile che in un sistema con una eccessiva disponibilità di nutrienti la  $\beta$ -cellula utilizzi il sistema Malonil CoA/LCFA CoA come sensore dell'eccessiva disponibilità e determini una risposta secretoria aumentata con iperinsulinemia. Questo meccanismo viene classicamente ritenuto in grado di compensare l'insulino-resistenza - indotta a livello periferico dagli stessi meccanismi - per un lungo periodo nella vita del soggetto. Il diabete si manifesta quando la  $\beta$ -cellula non è più in grado di compensare per una sua disfunzione intrinseca possibilmente geneticamente determinata o per una riduzione della massa  $\beta$ -cellulare mediata dai processi apoptotici. L'ipotesi della disfunzione del sensore dei nutrienti Malonil CoA/LCFA CoA come evento precipitante l'insorgenza dell'iperglicemia franca in un soggetto insulino-resistente prevede che l'accumulo dei metaboliti dei LCFA CoA (DAG, ceramide, perossidi lipidici) nel citoplasma sia il mediatore dei processi apoptotici  $\beta$ -cellulari.

### *Il sistema Malonil CoA/LCFA CoA nel SNC, sue alterazioni e impatto sull'obesità*

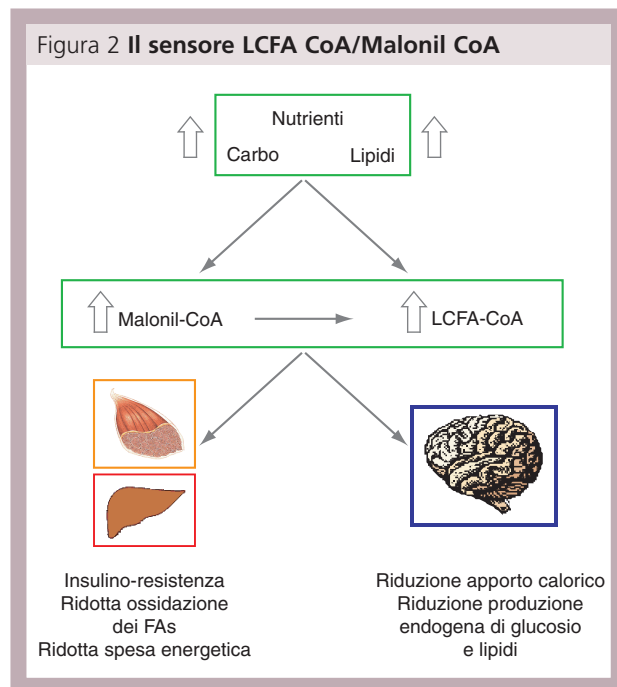
La disponibilità di nutrienti costituisce un potente regolatore del dispendio energetico. Il digiuno induce una riduzione del dispendio energetico, mentre la disponibilità di nutrienti induce l'attivazione del

dispendio energetico. I meccanismi molecolari che regolano il dispendio energetico modulato dalla dieta non sono a tutt'oggi compresi. Si ipotizza, sulla scorta dei dati ottenuti nei modelli animali roditori, che la leptina giochi un ruolo cruciale in questi meccanismi regolatori. Non è chiaro come in individui suscettibili all'obesità si generino dei meccanismi di resistenza agli aumentati livelli di leptina circolante indotti dall'eccesso di apporto dei nutrienti. La leptina e l'insulina costituiscono dei candidati ideali di segnale periferico che comunica a feedback sul SNC lo stato energetico dell'organismo. Gli effetti anoressizzanti della somministrazione di insulina e leptina nel SNC sostengono ulteriormente un loro ipotetico ruolo. Ciononostante, si stanno accumulando evidenze che sostengono l'ipotesi che i neuroni ipotalamici abbiano sensori specifici non solo per segnali endocrini come insulina e leptina, ma anche per i nutrienti circolanti che derivano dall'assorbimento intestinale o dalla produzione epatica di glucosio e lipidi. In particolar modo i LCFAs ma non i "medium chain" somministrati nel SNC sono in grado di inibire l'assunzione di cibo e la produzione endogena di glucosio nel modello animale (9). Gli effetti dei LCFAs non sembrano essere mediati dall'utilizzo ossidativo degli acidi grassi stessi, ma al contrario dall'accumulo intracellulare nei neuroni ipotalamici. Questi dati sarebbero sostenuti dall'osservazione che interventi farmacologici atti ad inibire la FAS (10) o la CPT-1 (11) e quindi capaci di aumentare i livelli intracellulari di LCFA CoA e Malonil CoA (12), costituiscono dei potenti segnali che comunicano l'abbondanza di disponibilità di nutrienti. Questo segnale induce una risposta che determina una riduzione dell'apporto dei nutrienti dalla dieta da un lato e una riduzione della produzione di substrati endogeni da parte del fegato dall'altra. Quindi, in condizioni fisiologiche quando la disponibilità dei LCFAs e dei carboidrati aumenta, nelle cellule ipotalamiche l'attivazione del segnale lipidico LCFA CoA/Malonil CoA può attivare una risposta a feedback negativo per ridurre l'ingresso dei nutrienti nel torrente circolatorio.

### Conclusioni

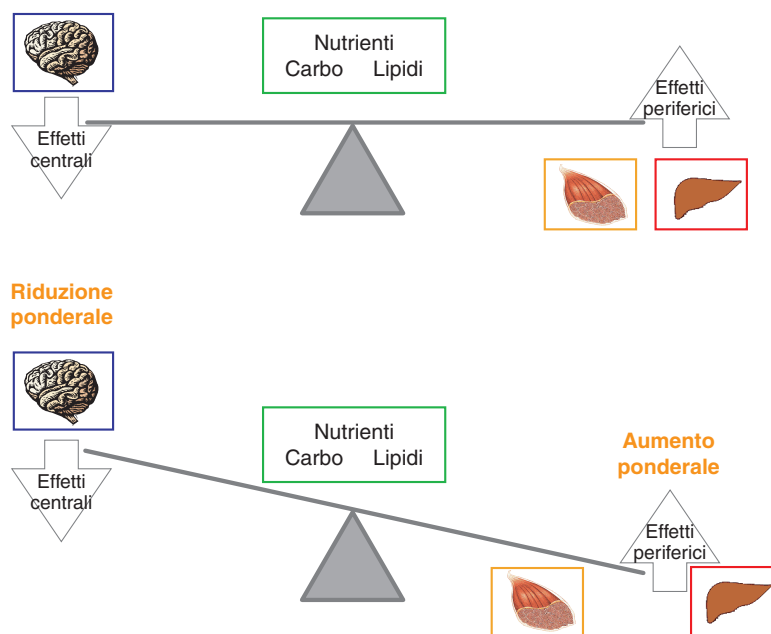
I segnali di abbondanza di nutrienti possono essere percepiti sia a livello dei tessuti periferici (muscolo scheletrico, fegato,  $\beta$ -cellula) sia in specifiche aree del SNC quali l'ipotalamo o il nucleo arcuato. A livello dei tessuti periferici l'aumentato flusso cellulare di lipidi e

carboidrati determina l'attivazione di vie metaboliche che inducono l'aumento dei livelli citoplasmatici di LCFA CoA/Malonil CoA. Questo "segnale" intracellulare è in grado di innescare insulino-resistenza nell'organo bersaglio e paradossalmente di stimolare le vie anaboliche di accumulo dei nutrienti. Lo stesso segnale a livello del SNC costituisce un potente modulatore dell'assunzione di cibo, della spesa energetica e del metabolismo intraepatico dei nutrienti allo scopo di limitarne l'eccessiva disponibilità a livello dei tessuti periferici. È interessante notare quindi come lo stesso sistema di "sensing" dei nutrienti possa a livello periferico indurre l'accumulo di grasso ectopico e quindi di insulino-resistenza, mentre nel SNC possa indurre un feedback che antagonizza l'eccessiva assunzione di calorie nella dieta e in generale un effetto contro-regolatorio che limita la disponibilità eccessiva di nutrienti. Si determina quindi da parte dello stesso sistema sensore dei nutrienti una specie di bilancio tra gli effetti periferici e centrali (Figura 2). Mentre il predominare degli effetti periferici si associa alle tipiche alterazioni della sindrome metabolica, il predominare degli effetti del SNC determinerebbe l'attivazione di una adeguata risposta all'eccessiva disponibilità di nutrienti (Figura 3). In questo modello di "sensing" periferico e centrale dei nutrienti devono ancora trovare precisa collocazione il



*Il sensore LCFA CoA/Malonil CoA potrebbe essere via metabolica comune ai tessuti periferici e al SNC con effetti metabolici opposti.*

Figura 3 Effetti centrali e periferici del "sensing" dei nutrienti



Quando gli effetti del "sensing" LCFA CoA/Malonil CoA predominano a livello dei tessuti periferici, essi indurrebbero uno stato di insulino-resistenza e di aumento di peso. Quando gli effetti predominano a livello del SNC si instaura un meccanismo che antagonizza i sopra-descritti effetti periferici.

ruolo metabolico ed endocrino di diversi altri fattori. L'attivazione della via della biosintesi delle esosamine in condizioni di aumentata disponibilità di glucosio potrebbe essere un potente modulatore del sistema LCFA CoA/Malonil CoA che assocerebbe l'attività del "sensore" alla secrezione di leptina. Il ruolo del tessuto adiposo, proprio per quel che riguarda gli effetti dei nutrienti sulla produzione di leptina e adiponectina e sui loro effetti a livello del SNC, deve essere ancora chiarito. Il ruolo del "sensing" dei nutrienti a livello del sistema digerente e la secrezione degli ormoni gastroenterici eventualmente prodotti a seguito dell'ingresso dei nutrienti stessi nel sistema digerente è altrettanto affascinante. Esistono poi dati preliminari che suggeriscono il fatto che tale via metabolica di "sensing" sia attiva anche a livello delle cellule endoteliali e possa essere modulatrice della patogenesi della "low-grade inflammation", della produzione di ROS e della disfunzione mitocondriale. Ancora più complesso risulta alla fine lo studio del "sensing" dei nutrienti a livello del miocardiocita e sulla possibile patogenesi di una specifica miocardiopatia diabetica.

Sebbene la mole di dati recentemente prodotti stia suggerendo che il meccanismo di "sensing" dei nutrienti

sopradescritto possa essere attivo sia nei modelli animali sia nell'uomo, molte conclusioni sono ancora basate su aspetti correlativi più che dimostrativi. Fondamentale sarà rispondere alla precisa domanda relativa a quale sia l'alterazione specifica del metabolismo degli acidi grassi che induce direttamente la disfunzione cellulare ed eventualmente il danno.

### Bibliografia

1. McGarry JD, Mannaerts GP, Foster DW. A possible role for malonyl-CoA in the regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis. *J Clin Invest* 60: 265-270, 1977.
2. Ruderman N, Prentki M. AMP kinase and Malonyl-CoA: targets for therapy of the metabolic syndrome. *Nature Reviews* 3: 340-351, 2004.
3. Perseghin G, Scifo P, De Cobelli F, Pagliato E, Battezzati A, Arcelloni C, Vanzulli A, Testolin G, Pozza G, Del Maschio A, Luzi L. Intramyocellular triglyceride content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: a <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C NMR spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents. *Diabetes* 48: 1600-1606, 1999.
4. Dresner A, Laurent D, Marcucci M, Griffin ME, Dufour S, Cline GW, Slezak LA, Andersen DK, Hundal RS, Rothman DL, Petersen KF, Shulman GI. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest*. 103:253-9, 1999.

5. Neel JV. Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? 1962. *Bull World Health Organ* 77: 694-703; discussion 692-3, 1999.
6. Chen S, Ogawa A, Ohneda M, Unger RH, Foster DW, McGarry JD. More direct evidence for a malonyl-CoA-carnitine palmitoyltransferase I interaction as a key event in pancreatic beta-cell signaling. *Diabetes* 43: 878-883, 1994.
7. Prentki M, Corkey BE. Are the  $\beta$ -cell signaling molecules Malonyl-CoA and cytosolic long-chain Acyl-CoA implicated in multiple tissue defects of obesity and NIDDM? *Diabetes* 45: 273-283, 1996.
8. Roduit R, Nolan C, Alarcon C, Moore P, Barbeau A, Delghingaro-Augusto V, Przybykowski E, Morin J, Masse F, Massie B, Ruderman N, Rhodes C, Poitout V, Prentki M. A role for the malonyl-CoA/long-chain acyl-CoA pathway of lipid signaling in the regulation of insulin secretion in response to both fuel and nonfuel stimuli. *Diabetes* 53: 1007-1019, 2004.
9. Obici S, Feng Z, Morgan K, Stein D, Karkanias G, Rossetti L. Central administration of oleic acid inhibits glucose production and food intake. *Diabetes* 51: 271-275, 2002.
10. Shimokawa T, Kumar MV, Lane MD. Effect of a fatty acid synthase inhibitor on food intake and expression of hypothalamic neuropeptides. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 66-71, 2002.
11. Obici S, Feng Z, Arduini A, Conti R, Rossetti L. Inhibition of hypothalamic carnitine palmitoyltransferase-1 decreases food intake and glucose production. *Nat Med* 9: 756-761, 2003.
12. Hu Z, Cha SH, Chohan S, Lane MD. Hypothalamic Malonyl-CoA as mediator of feeding behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 12624-12629, 2003.

