

Beyond Glycemia

Trimestrale a carattere scientifico

www.beyondglycemia.com

Anno II - N. 2, 2013
ISSN 2279-9729

EDITORIALE

3 a cura del Board Scientifico

LEADING ARTICLE

Diabete mellito ed epatopatie croniche

Giuseppina Manzoni, Federico Martucci, Alice Oltolini,
Simona Villa, Guido Lattuada, Gianluca Perseghin

AGGIORNAMENTI DALLA LETTERATURA

5 L'attività fisica rende i gemelli "diversi"

Angelo Cignarelli

Long-term leisure-time physical activity and serum metabolome
Kujala UM et al., *Circulation*. 2013 Jan 22;127(3):340-8

7 La glicemia nel Diabete tipo 1 non dipende solo dai carboidrati

Patrizia Di Fulvio

Dietary Fat Acutely Increases Glucose Concentrations and Insulin Requirements in Patients With Type 1 Diabetes
Wolpert HA et al., *Diabetes Care* 36(4):810-6, 2013

9 Il deficit mitocondriale è coinvolto nel meccanismo fisiopatologico dell'insulinoresistenza?

Ilaria Dicembrini

Mitochondrial deficiency is associated with insulinresistance
Goodpaster BH, *Diabetes April* 2013; 62:1032-35
Deficiency of mitochondria in muscle does not cause insulin resistance
Holloszy JO, *Diabetes April* 2013; 62: 1036-40

11 Gli acidi biliari, nuovi regolatori del benessere delle beta-cellule pancreatiche

Marta Letizia Hribal

Hepatic glucose sensing is required to preserve β cell glucose competence
Seyer P et al., *J Clin Invest* 123:1662-76,2013

13 Effetti della terapia insulinica a breve termine nel diabete tipo 2 all'esordio

Mauro Rigato

Short-term intensive insulin therapy in type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis
Kaercher Kramer C et al., *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, published online on January 30, 2013

Beyond Glycemia

Anno II - N. 2, 2013
Periodico trimestrale a carattere scientifico
Registrazione Tribunale di Milano n. 383 del 13/07/2011

www.beyondglycemia.com

Editore SINERGIE Edizioni Scientifiche S.r.l.
Via la Spezia, 1 - 20143 Milano
Tel. 02 58118054 - Fax 02 8322004
E-mail: redazione@edizionisinergie.com
www.edizionisinergie.com

Direttore Responsabile Mauro Rissa

Board Scientifico Marco Comaschi
Agostino Consoli
Paola Fioretto
Davide Lauro
Edoardo Mannucci
Gianluca Perseghin
Giorgio Sesti

Board Specialisti Giuseppe Paolisso
Roberto Pontremoli
Paolo Verdecchia

Redazione Scientifica Riccardo Candido
Angelo Cignarelli
Patrizia Di Fulvio
Ilaria Dicembrini
Marta Letizia Hribal
Mauro Rigato

Redazione Sinergie Edizioni Scientifiche S.r.l.

Impaginazione Sinergie Edizioni Scientifiche S.r.l.

Stampa Galli Thierry Stampa S.r.l.
Via Caviglia, 3 - 20139 Milano

Tiratura 4.000 copie

Copyright ©2013 SINERGIE Edizioni Scientifiche S.r.l.
Tutti i diritti sono riservati.
Nessuna parte di questa pubblicazione può essere fotocopiata
o riprodotta senza l'autorizzazione dell'Editore.

EDITORIALE

Cari Lettori,
anche in questo numero di Beyond Glycemia abbiamo selezionato dalla letteratura articoli originali particolarmente stimolanti ed innovativi che enfatizzano alcune tra le controversie più significative nell'area di interesse diabetologico.

Angelo Cignarelli ci presenta in questo numero la discussione di un articolo che utilizzando il modello di coppie di gemelli di sesso maschile discordanti per attività fisica dimostra la capacità che l'esercizio fisico ha di sfidare, con successo, la nostra costituzione genetica e le nostre abitudini alimentari. Questo studio è particolarmente rilevante nell'ottica dei frustranti risultati di prevenzione cardiovascolare indotti dall'esercizio fisico generati dal trial Look-Ahead e recentemente discussi allo Scientific Meeting di Chicago dell'America Diabetes Association. Patrizia Di Fulvio ci ricorda che l'interazione tra il metabolismo glucidico e degli acidi grassi ha rilevanza nei pazienti con diabete di tipo 2 ma anche nei pazienti con diabete di tipo 1 discutendo un articolo che enfatizza l'importanza non solo del picco glicemico ma anche del picco degli acidi grassi post-prandiale nella sua capacità di modulare il fabbisogno insulinico dei nostri pazienti.

Ilaria Dicembrini seleziona dalla letteratura un eclatante esempio di controversia nell'ambito della patogenesi dell'insulino resistenza a livello del muscolo scheletrico. Discute due lavori usciti simultaneamente sullo stesso numero di Diabetes di Aprile in cui gli autori arrivano a conclusioni diametralmente opposte: l'insulino resistenza non dipende/dipende da deficit mitocondriali.

Marta Letizia Hribal discute un lavoro che lascia intravedere nel prossimo futuro la possibilità di identificare nuovi potenziali targets terapeutici legati alla regolazione della funzione beta-cellulare mediata dagli acidi biliari, che costituirebbero potenziali messaggeri nel cross-talk tra fegato e beta cellula.

Mauro Rigato ci presenta una revisione sistematica e metanalisi di dati relativi anche in questo caso ad un argomento controverso e im-

portante quale è quello degli effetti della terapia intensiva con insulina nel diabete di tipo 2 all'esordio della malattia.

Il Leading Article di questo numero è invece dedicato al Diabete e Epato-patie Croniche.

In questi ultimi mesi a livello mondiale è stato discusso e introdotto il concetto di personalizzazione della terapia del paziente con diabete di tipo 2. La necessità di dover intraprendere una "terapia sartoriale" è sostenuta da un lato dalla eterogeneità dei quadri clinici che caratterizzano i nostri pazienti e dall'altra dalla disponibilità di nuovi strumenti terapeutici così diversi tra di loro anche per meccanismi d'azione.

A noi diabetologi viene richiesto di diventare quasi "artisti" nella nostra capacità di generare obiettivi e approcci terapeutici personalizzati che meglio "vestano" le esigenze di ogni singolo paziente per meglio gestire non solo il diabete ma la sua intera patologia costituita anche dalle complicanze della malattia, dalle sue co-morbidità, dalle caratteristiche/attitudini psicologiche del paziente, dall'ambiente in cui vive nonché dei farmaci potenzialmente utilizzabili.

I Leading Articles di Beyond Glycemia hanno già affrontato il tema del diabete e dell'insufficienza renale cronica, dei rischi associati all'ipoglicemia che possiamo indurre in modo iatrogeno, del diabete e sua terapia nel paziente anziano e del paziente con malattia cardiovascolare.

Abbiamo proseguito su questo solco tracciato nei numeri precedenti proponendo oggi di focalizzare l'attenzione sul fegato; sul suo ruolo centrale di regolatore del metabolismo sistemico e sul suo ruolo patogenetico nel diabete di tipo 2. Ma anche sul fatto che il paziente con epatopatia cronica possa costituire una sfida in termini di gestione terapeutica sia nell'ottica di efficacia che di sicurezza e come a tutt'oggi non esistano dati sufficientemente robusti che ci possano far propendere con risolutezza e sicurezza ad una scelta terapeutica piuttosto che un'altra.

Vi presentiamo un altro membro del Board di Beyond Glycemia, Angelo Cignarelli, e vi auguriamo una splendida estate da trascorre in compagnia della lettura di questo numero.

Il Board Scientifico

La scheda del Board

ANGELO CIGNARELLI



Angelo Cignarelli, 36 anni, medico endocrinologo, svolge attività assistenziale, didattica e di ricerca come assegnista presso l'Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Sezione di Endocrinologia e Malattie Metaboliche del Dipartimento dell'Emergenza e Trapianto di Organi, diretta dal Prof. F. Giorgino.

Principali Settori di Ricerca:

- 1. Fisiologia molecolare del tessuto adiposo umano viscerale e sottocutaneo*
- 2. Fisiologia molecolare della differenziazione adipocitaria*
- 3. Fisiologia molecolare del trasporto del glucosio*
- 4. Effetti degli analoghi long-acting dell'insulina sulla differenziazione e sulle risposte metaboliche di adipociti umani*

Si specializza in Endocrinologia e Malattie del Metabolismo nel 2006, conseguendo il diploma presso l'Università di Bari discutendo la tesi sperimentale dal titolo "Adipociti umani viscerali e sottocutanei differenziati in vitro da cellule stromali: specificità di espressione genica e di risposte biologiche".

Nel 2009 consegue il titolo di Dottore di Ricerca in "Biotecnologie applicate ai trapianti di organi e tessuti" ciclo XXII.

Nel 2013 consegue il Master Universitario di II Livello in Metodologie di Ricerca Bio-Medica in Diabetologia.

Dal 2009 ha ufficialmente il titolo di cultore della materia per l'insegnamento in "Biotecnologie applicate alla fisiopatologia endocrina" per il Corso di Laurea magistrale in Biotecnologie mediche e medicina molecolare.

Dal 2002 è iscritto alla SID, SIE, AME, e dal 2011 membro della Commissione Giovani – EnGiol della SIE.

Vincitore di premi per l'attività di ricerca scientifica nell'ambito della diabetologia e del metabolismo, tra cui il Premio SID "Umberto Di Mario" per la migliore pubblicazione scientifica in ambito diabetologico per ricercatori under 35.

Autore di 9 pubblicazioni su riviste internazionali, 6 Reviews su riviste internazionali e 3 capitoli di libri (Impact Factor Totale 59.527).

L'attività fisica rende i gemelli "diversi".

Long-term leisure-time physical activity and serum metabolome

Kujala UM, Mäkinen VP, Heinonen I, Soinen P, Kangas AJ, Leskinen TH, Rahkila P, Würtz P, Kovanen V, Cheng S, Sipilä S, Hirvensalo M, Telama R, Tammelin T, Savolainen MJ, Pouta A, O'Reilly PF, Mäntyselkä P, Viikari J, Kähönen M, Lehtimäki T, Elliott P, Vanhala MJ, Raitakari OT, Järvelin MR, Kaprio J, Kainulainen H, Ala-Korpela M.

Circulation. 2013 Jan 22;127(3):340-8

Angelo Cignarelli

È noto che l'attività fisica a lungo termine riduce il rischio cardiovascolare; le informazioni circa i meccanismi molecolari alla base di tale fenomeno sono però ancora scarse; ciò è dovuto anche alla difficoltà di condurre studi randomizzati e controllati in cui valutare l'effetto dell'attività fisica.

Gli Autori di questo studio hanno voluto valutare se l'attività fisica persistente abbia un effetto significativo sull'insieme di tutti i metaboliti sierici, ovvero il metaboloma, e se questo effetto sia vantaggioso dal punto di vista del rischio di malattia cardio-metabolica rispetto all'inattività.

Lo studio è stato condotto impiegando due approcci basati su due popolazioni differenti:

1) Al fine di controllare l'impatto dell'ambiente di infanzia e per escludere fattori genetici eventualmente alla base delle associazioni tra attività fisica e fattori di rischio cardio-metabolico, sono stati selezionati, scegliendo coppie che per tutti i 32 anni dello studio presentassero livelli di attività fisica discordanti, 32 gemelli dello stesso sesso (età media, 60 anni), provenienti da uno studio di coorte (Finnish Twin Cohort Study).

2) Inoltre, per verificare i risultati nella popolazione generale, sono stati selezionati individui provenienti da 3 studi di coorte indipendenti (per un tot di 1037 coppie comparate per età e sesso), che presentassero livelli di attività fisica discordanti per 5 anni.

Dall'analisi del metaboloma sono emerse interessanti differenze tra i gemelli persistentemente attivi

rispetto a quelli inattivi, delle quali in fig. 1 sono riportate le più significative.

Come atteso, è stato osservato che i livelli di glucosio a digiuno erano inferiori nei soggetti attivi vs inattivi. Questo dato, secondo gli Autori, potrebbe rappresentare il risultato di un fenomeno di adattamento a lungo termine in cui, a fronte di un'aumentata domanda di ossigeno e di utilizzo di acidi grassi, si realizza una riduzione dei depositi di acidi grassi e quindi di resistenza all'azione dell'insulina.

I gemelli attivi, presentavano livelli di isoleucina inferiori rispetto alle controparti inattive. In un recente studio di follow-up, si è di-

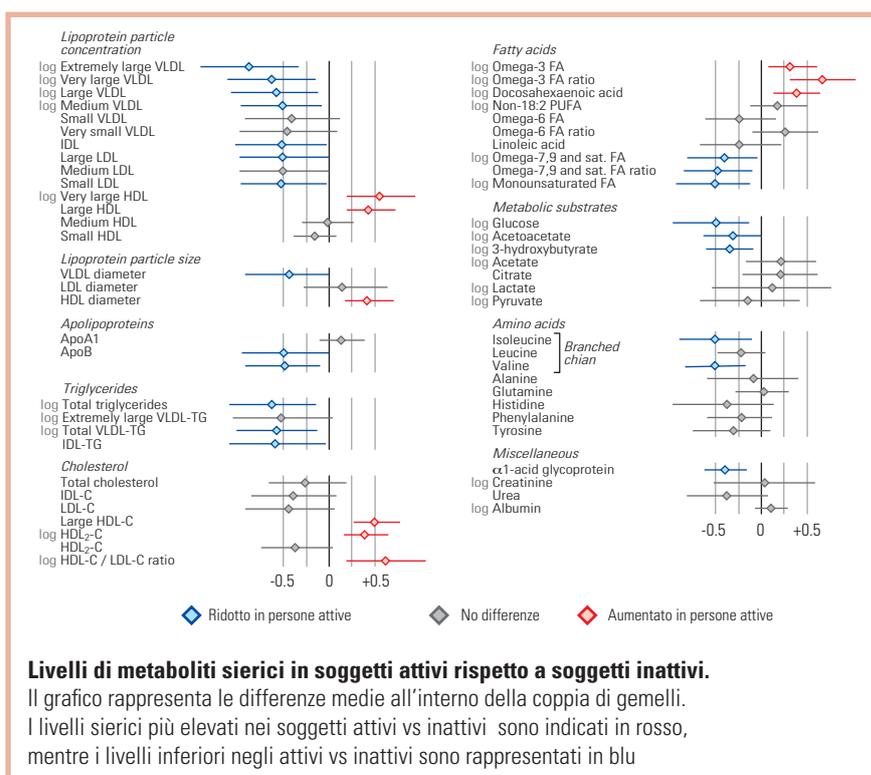


Figura 1

Soggetti attivi presentano, a parità di sesso, età, background genetico, dieta:

- ↓ glucosio, isoleucina, α 1 glicoproteina acida, trigliceridi, LDL, VLDL, IDL, acidi grassi saturi, rapporto apoB/A1
- ↑ HDL, HDL2, acidi grassi polinsaturi
- ↑ geni del metabolismo ossidativo, degradazione AACR, biosintesi di acidi grassi polinsaturi.

mostrata un'associazione tra alti livelli di amino-acidi a catena ramificata (AACR) e sviluppo di diabete mellito tipo 2 (D2T). Questo dato appare in linea con i risultati dello studio in cui si riscontrano livelli di isoleucina inferiori nei soggetti fisicamente attivi, che è noto abbiano un ridotto rischio di sviluppare D2T. In uno studio precedente, gli stessi Autori hanno mostrato che tra i membri fisicamente attivi di coppie di gemelli, vi era un'aumentata espressione di un set di geni preposti alla degradazione degli AACR sia a livello del tessuto muscolare che del tessuto adiposo, insieme ad un aumento dell'espressione di geni codificanti per proteine deputate alla fosforilazione ossidativa nel tessuto muscolare. Secondo gli Autori, questi risultati potrebbero suggerire un'interconnessione a livello cellulare tra utilizzo di AACR e di acidi grassi tramite un medesimo circuito metabolico che potrebbe spiegare i ridotti livelli di isoleucina nei soggetti attivi. Inoltre, l'elevata velocità di degradazione di AACR ed il loro consumo sono associati con alta capacità aerobica e basso contenuto di grassi corporeo.

Un ulteriore risultato di questo studio è stato il riscontro di livelli più bassi di α 1 glicoproteina acida (orosomucoide) tra i soggetti attivi. La α 1 glicoproteina acida, proteina sierica di fase acuta prodotta principalmente dal fegato in risposta alle citochine pro-infiammatorie, ha dimostrato di essere un predittore di morte in pazienti anziani ospedalizzati. Inoltre, è stato dimostrato che rispetto ai soggetti sani, i livelli di glicoproteina α 1-acida sono più elevati tra i soggetti con D2T e/o sindrome metabolica. Pertanto, secondo gli autori, i ridotti livelli di α 1 glicoproteina acida potrebbero essere l'espressione di uno stato di flogosi di grado inferiore nei soggetti attivi rispetto agli inattivi.

Anche le concentrazioni di trigliceridi, VLDL, LDL e IDL, sono risultate inferiori nei soggetti attivi, mentre, le concentrazioni di HDL grandi che, a differenza delle HDL piccole, sono associate a ridotto rischio di malattia coronarica, sono risultate più elevate; peraltro, anche la dimen-

sione media delle particelle HDL e HDL2 è risultata maggiore tra gli individui attivi. Inoltre, l'up-regolazione del set di geni della fosforilazione ossidativa nel muscolo scheletrico è apparsa fortemente associata con i livelli di HDL ($r = 0.62$, $P < 0.001$); per tale osservazione, gli Autori suggeriscono che il colesterolo HDL potrebbe rivestire un ruolo diretto nel metabolismo ossidativo.

Inoltre, anche il rapporto apolipoproteina B/apolipoproteina A1 (ApoB/apoA1) è risultato inferiore tra i soggetti attivi e quindi in linea con un profilo di rischio cardiovascolare più basso. È noto che il livello di ApoB indica il numero di particelle di lipoproteine potenzialmente aterogene, mentre ApoA1 sembra essere essenziale nella rimozione del colesterolo dai tessuti periferici, tanto che il rapporto ApoB/A1 rappresenta un predittore di eventi cardiovascolari. Complessivamente, i dati sul profilo lipidico confermano l'effetto positivo dell'attività fisica sui principali fattori di rischio cardiovascolare.

Inoltre, in questo studio si fornisce evidenza di una associazione significativa tra attività fisica e profilo degli acidi grassi sierici, con un aumento della percentuale di omega-3 e riduzione della concentrazione sierica di acidi grassi saturi nei soggetti attivi. Poiché non sono emerse differenze nell'assunzione di acidi grassi saturi, monoinsaturi e polinsaturi tra membri attivi e inattivi di coppie di gemelli, sembra che le differenze osservate nel profilo sierico degli acidi grassi possano essere attribuite, almeno in parte, a meccanismi legati all'esercizio fisico; tra questi, l'up-regolazione del set di geni della biosintesi di acidi grassi polinsaturi (incluse varie desaturasi) osservata nel tessuto adiposo dei gemelli fisicamente attivi, potrebbe essere un meccanismo attraverso cui si realizzano queste differenze.

Tutte le differenze di metaboloma osservate negli studi sui gemelli sono apparsi sovrapponibili a quelli osservati nella popolazione generale.

Gli Autori concludono affermando che l'attività fisica persistente provoca notevoli effetti su un numero rilevante di metabolici sierici, indipendentemente dal background genetico e dalla dieta, e che ciò si associa a modifiche di espressione genica di tessuti critici per il metabolismo; inoltre lo studio fornirebbe un ulteriore tassello per la comprensione meccanicistica di precedenti risultati suggerendo come un fenotipo caratterizzato da persistente attività fisica o elevata capacità aerobica possa predire una bassa morbilità e mortalità cardiometabolica in maniera più forte di qualsiasi altro noto fattore di rischio biologico.

La glicemia nel Diabete tipo 1 non dipende solo dai carboidrati

Dietary Fat Acutely Increases Glucose Concentrations and Insulin Requirements in Patients With Type 1 Diabetes

Wolpert HA, Atakov-Castillo A, Smith SA, Steil GM
Diabetes Care 36(4):810-6, 2013

Patrizia Di Fulvio

Il trattamento intensivo del diabete mellito tipo 1 (DM1) è basato sulla conta dei carboidrati (CHO) o in alternativa su dosi costanti di CHO in uno schema insulinico a unità fisse. Non sono però solo i CHO ad influenzare la glicemia: i grassi, ad esempio, da una parte rallentano lo svuotamento gastrico, ritardando l'assorbimento degli zuccheri, dall'altra alterano la sensibilità all'insulina e aumentano l'output epatico di glucosio.

Gli Autori di questo articolo sono partiti dal rilievo, ottenuto mediante monitoraggio in continuo della glicemia in pazienti con DM1, che un maggior contenuto di grassi nel cibo determina un aumento delle unità di insulina richieste per metabolizzare la stessa quantità di CHO. In effetti non sono disponibili studi controllati su pazienti DM1 volti a comprendere gli effetti, su glicemia e unità di insulina, del contenuto alimentare di grassi indipendentemente dagli altri macronutrienti. Pertanto sono stati arruolati 11 pazienti con DM1 da oltre 5 anni (età tra 21 e 70 anni, HbA1c <9%, trattati con microinfusore da almeno 6 mesi, senza malattia celiaca, restrizioni alimentari e alterazioni della motilità gastrica) in uno studio crossover volto a confrontare il controllo glicemico durante le 18 ore successive ad una cena ad alto contenuto di grassi (60 g, HF) con quello ottenuto dopo una cena a basso contenuto di grassi (10 g, LF), a parità di CHO e proteine (vedi figura 1); nei periodi di osservazione, il microinfusore è stato sostituito con un sistema ad ansa chiusa, regolato mediante algoritmi per l'infusione insulinica, basale e prandiale, integrati con il monitoraggio in continuo della glicemia

(GS). Il protocollo è stato strutturato in modo da ridurre al minimo tutti gli effetti confondenti che avrebbero potuto mascherare le differenze nella richiesta insulinica nei due periodi di osservazione, come per esempio le ipoglicemie con il conseguente aumento degli ormoni controregolatori, pertanto al di fuori del periodo ad ansa chiusa è stata fissata una soglia di allarme a 90 mg/dL. Ogni paziente è rimasto ricoverato complessivamente per 48 ore, durante le quali sono stati valutati anche i livelli plasmatici di glucosio e insulina.

Per ogni paziente è stato inizialmente calcolato il fabbisogno calorico delle 48 ore, suddiviso poi in tre pasti giornalieri: le cene HF e LF, standard per tutti i pazienti, contenevano un'uguale quantità di CHO con indice glicemico simile, quindi colazione e pranzo sono stati organizzati in modo da compensare le 450 kcal in più del pasto HF. I pazienti, sempre controllati durante i pasti, sono stati incoraggiati a mangiare in un tempo simile; per protocollo non erano consentiti spuntini interprandiali o nel periodo notturno, tranne in caso di ipoglicemie.

La conta dei CHO è un aiuto valido per il controllo della glicemia nel paziente DM1 ma necessita di implementazione.

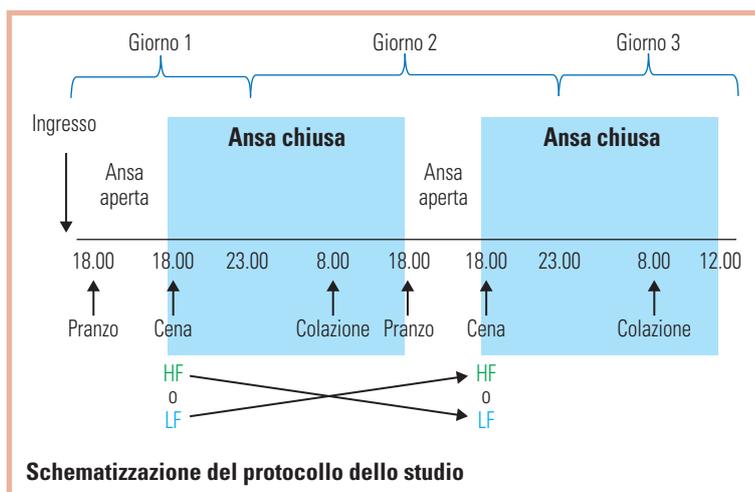


Figura 1

Per l'analisi finale 4 pazienti sono stati esclusi perché i dati non erano appaiati in maniera appropriata; sono stati quindi considerati 7 pazienti (5 uomini e 2 donne, con età media 55 ± 12 aa, durata di diabete 42 ± 6 , HbA1c $7,2 \pm 0,8\%$, dosaggio giornaliero totale di insulina $0,5 \pm 0,14$ U/kg, BMI $26,3 \pm 3,6$ kg/m²). I profili glicemici dei pazienti erano sostanzialmente sovrapponibili tranne nelle ore successive al pasto ricco di grassi in cui era necessaria più insulina per correggere la glicemia, che comunque rimaneva più elevata rispetto a LF; i livelli di insulina risultavano più alti ancora 5-10 ore dopo il pasto, con un rapporto carboidrati/insulina significativamente più basso (vedi figura 2). L'aumentata richiesta insulinica dopo il pasto HF (che correlava con la quantità giornaliera di insulina ma non con il BMI) ha presentato una enorme variabilità interindividuale, probabilmente dovuta alle differenze nello svuotamento gastrico, nei livelli di acidi grassi liberi (FFA), glucagone o incretine. I risultati di questo studio dimostrano che nei pazienti DM1, in presenza di un più elevato contenuto di grassi, anche a parità di CHO è necessaria una maggiore quantità di insulina per correggere la glicemia postprandiale e quella delle ore successive, dato coerente con l'insulino-resistenza prolungata registrata nei soggetti normali in presenza di un aumento degli FFA. I metodi di calcolo dei boli insulinici, finora utilizzati nella terapia intensiva del DM1, presentano pertanto dei limiti evidenti in quanto si basano esclusivamente sulla conta dei CHO. Queste considerazioni sono importanti per la gestione quotidiana e il processo educativo del paziente diabetico, per cui è necessario un approccio pratico che consideri l'alimentazione in maniera multidimensionale (non solo CHO), in modo da individuare alternative nutrizionali

L'alimentazione nel paziente DM1 deve essere considerata in maniera "multidimensionale", valutando non solo il contenuto di CHO, ma anche quello di altri macronutrienti, tra cui i grassi.

a più basso indice glicemico, modificando/migliorando le abitudini dei pazienti; queste valutazioni, fatte comunque caso per caso partendo dalle escursioni individuali della glicemia, permetterebbero di implementare algoritmi infusionali che tengano conto degli altri nutrienti della dieta oltre i CHO (p.e. Food Insulin Index).

I limiti di questo studio risiedono innanzitutto nelle dimensioni del campione, piccolo ed eterogeneo, di pazienti DM1 pertanto, sebbene significativi per il disegno crossover del protocollo, questi dati dovrebbero essere approfonditi su popolazioni più omogenee in modo da valutare anche le differenze dovute a sesso, età, durata del DM, BMI, etc. Inoltre, mantenendo costante l'apporto di CHO e proteine, la cena LF risultava ipocalorica rispetto alla HF, che era costituita prevalentemente da grassi saturi: questo non ha permesso di chiarire in che misura l'aumentata necessità di insulina dipenda dalla quantità piuttosto che dalla qualità dei grassi assunti.

In conclusione, un'importante sfida nella gestione del diabete è la prevenzione dei picchi iperglicemici postprandiali: sono necessari ulteriori studi per sviluppare e validare algoritmi alternativi per il dosaggio dell'insulina per pasti ad elevato contenuto di grassi e per definire approcci nutrizionali nuovi per minimizzare l'iperglicemia indotta dai grassi alimentari.

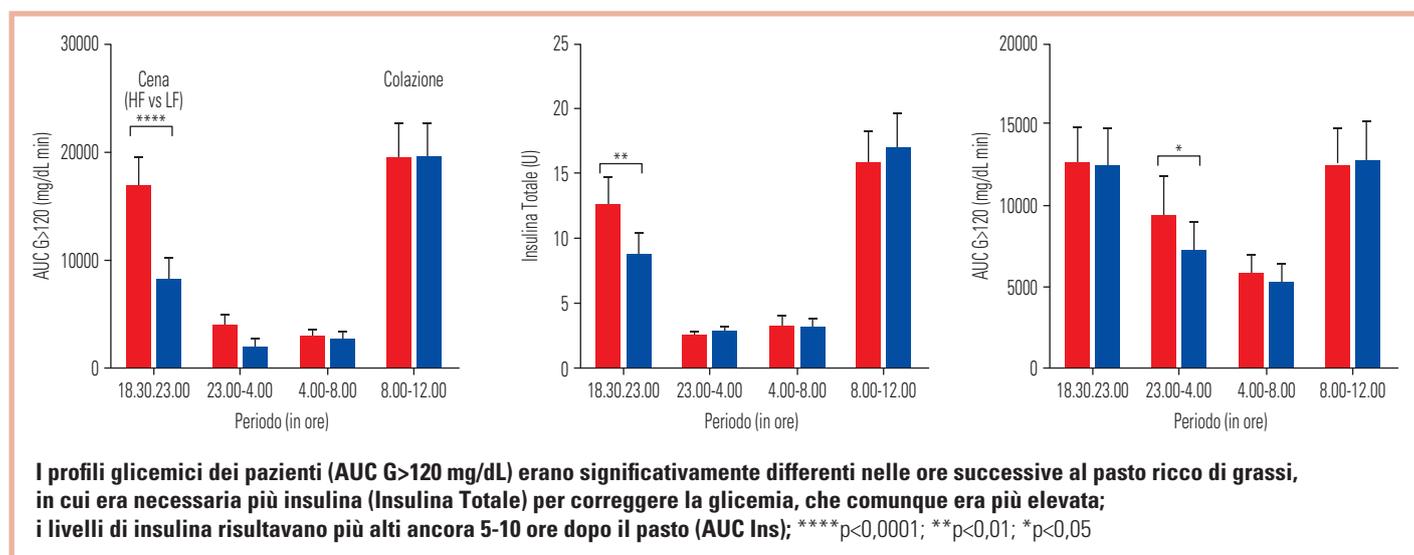


Figura 2

Diabete mellito ed epatopatie croniche

Giuseppina Manzoni¹, Federico Martucci¹, Alice Oltolini¹, Simona Villa¹, Guido Lattuada¹, Gianluca Perseghin²

¹ Medicina Metabolica, Policlinico di Monza, Monza

² Dipartimento di Scienze Mediche per la Salute, Università degli Studi di Milano, Milano

Le malattie epatiche nel diabete mellito

Il diabete di tipo 2 costituisce un problema di notevole entità per le società moderne per la larga diffusione che è ha raggiunto in questi ultimi anni nella popolazione e per le sue complicanze che non risparmiano praticamente nessun organo, sistema ed apparato dell'organismo con conseguenti costi molto elevati per il sistema sanitario.

La ridotta aspettativa di vita nei pazienti con il diabete di tipo 2 non è dovuta solo all'associazione con l'aterosclerosi e le sue manifestazioni acute, al cancro e alle complicanze renali ma anche ad un rischio elevato di largo spettro di malattie epatiche tra cui la cirrosi e carcinoma epatocellulare (HCC) (1,2).

Se da un lato è noto che il diabete conferisce rischio più elevato di malattia epatica è vero anche il contrario; nei pazienti con cirrosi epatica l'elevata incidenza di diabete è stata riconosciuta essere secondaria proprio alla malattia epatica già dal 1906 quando il termine "diabete epatogeno" venne introdotto in letteratura per la prima volta (3). I pazienti con cirrosi epatica sono noti da tempo per essere caratterizzati da una profonda alterazione del metabolismo del glucosio (4); (Figura 1).

Lo sviluppo del diabete sembra essere inoltre relativamente rapido nei pazienti con cirrosi (8). L'intero spettro delle malattie epatiche può essere riscontrato nel paziente con diabete di tipo 2; dalla comunemente riscontrata alterazione dei livelli circolanti degli enzimi epatici alla cirrosi, all'HCC fino all'insufficienza epatica acuta. Esiste anche una non chiara associazione con l'epatite da virus C, ma anche la colelitiasi è più frequente nei pazienti diabetici.

E' noto però che la "non-alcoholic fatty liver disease" (NAFLD), la malattia epatica più comune e diffusa nei paesi Occidentali, è molto comune nel paziente con diabete di tipo 2 e può essere addirittura considerata la condizione patogeneticamente predisponente al diabete per la sua forte associazione con lo stato di insulino resistenza sistemica che non interessa solo le vie di regolazione del metabolismo del glucosio a livello epatico ma anche a livello del

muscolo scheletrico, nonché la regolazione del metabolismo degli acidi grassi sia a livello epatico che del tessuto adiposo (9).

Sulla base di queste semplici osservazioni epidemiologiche e fisiopatologiche si può concludere che da un lato la NAFLD può costituire un evento patogenetico importante per lo sviluppo del diabete di tipo 2 e probabilmente anche per lo sviluppo delle sue complicanze macrovascolari, e dall'altro lato il diabete può influenzare significativamente la progressione delle malattie epatiche in una sorta di circolo vizioso che diventa difficile da affrontare nell'ambito della gestione clinica dei pazienti diabetici con epatopatia.

Alterazioni degli enzimi epatici nel diabete di tipo 2

Il riscontro di livelli serici elevati di alanina aminotransferasi (ALT) è poco comune nella popolazione sana, ma diventa frequente nei pazienti con diabete di tipo 2. In una serie di studi focalizzati sull'uso dei tiazolidinedioni nei pazienti con diabete è stato osservato che la prevalenza di elevati livelli di transaminasi è presente in una percentuale variabile tra il 2-24% (10), e in un altro studio che ha raccolto più di 5000 pazienti diabetici, a dispetto dell'esclusione di coloro che avevano valori superiori di 2.5 volte il valore superiore di normalità di ALT, AST, e fosfatasi alcalina, il 5-6% manifestava un lieve aumento (< 2.5 volte) dei markers di danno epatico (11). Il 98% di questi individui aveva fatty liver o epatite cronica e la forma più comunemente riscontrata era la NAFLD (11).

NAFLD e il diabete di tipo 2

Ruolo della NAFLD nella patogenesi del diabete di tipo 2: NAFLD e insulino resistenza.

La NAFLD costituisce uno spettro di malattie epatiche che va dalla semplice steatosi epatica alla steatoepatite (12). Durante gli ultimi 10-15 anni l'uso di tecniche sofisticate come la risonanza magnetica in spettroscopia del protone (Figura 2) hanno permesso la quantificazione precisa del contenuto dei trigliceridi intraepatici in vivo nell'uomo senza la necessità di ottenere biopsie epatiche.

Sebbene la semplice steatosi epatica sia considerata una condizione benigna, essa si accompagna a multiple alterazioni metaboliche a carico di organi e tessuti sotto controllo dell'insulina: ridotta inibizione della produzione endogena (epatica) di glucosio (13, 14), ridotto utilizzo muscolare di glucosio (15,16), ridotta inibizione della lipolisi (13-16). Anche studi di intervento evidenziano questa associazione: il trattamento dei pazienti con diabete di tipo 2 con una dieta ipocalorica a basso contenuto lipidico ha determinato una riduzione dei trigliceridi intraepatici dell'81% con il ripristino dell'insulino sensibilità epatica (16) e in pazienti con diabete di tipo 2 in terapia insulinica, il contenuto intra epatico di trigliceridi risultava essere il parametro metabolico più strettamente associato al fabbisogno insulinico di questi pazienti (17). A supporto di questo effetto sfavorevole del fegato grasso sulla sensibilità insulinica a livello dei diversi organi e tessuti e in questi, a livello delle diverse vie metaboliche insulino-dipendenti ci sono diverse osservazioni. Per esempio, il contenuto intraepatico di

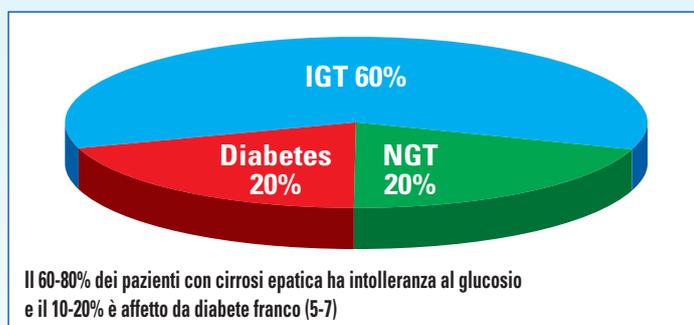


Figura 1

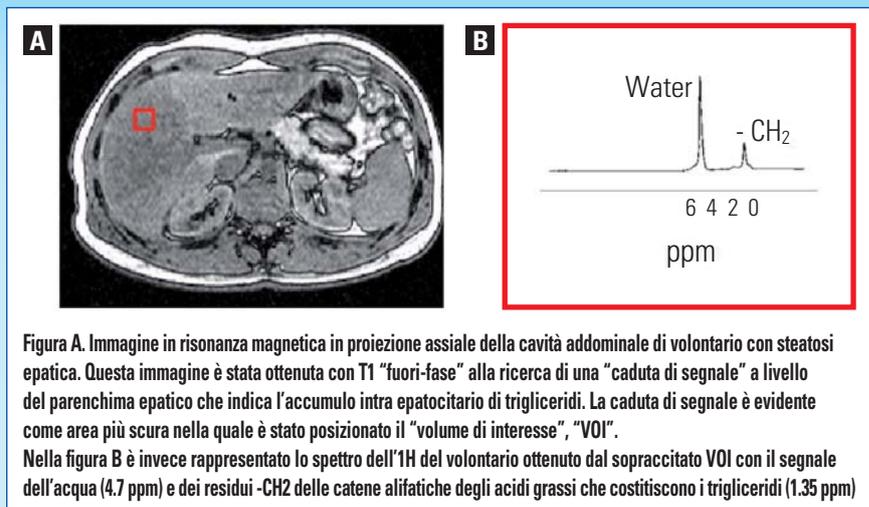


Figura 2

trigliceridi correla molto meglio che il contenuto intramuscolare di trigliceridi e/o il grasso viscerale e/o il tessuto adiposo sottocutaneo con la resistenza insulinica in vivo nell'uomo non diabetico (18) e diabetico (19). Nel modello dell'uomo obeso ma metabolicamente sano (non insulino resistente), la preservata insulino sensibilità è associata in modo più robusto al basso contenuto di trigliceridi intraepatici piuttosto che con qualsiasi altro parametro antropometrico registrabile con metodiche per immagini ad alta sensibilità e specificità (20). Una simile osservazione è stata da noi riportata anche negli adolescenti obesi che sono risultati essere più insulino resistenti se affetti da steatosi epatica rispetto a coloro che a parità di obesità non avevano steatosi epatica (21). Da ultimo, è dimostrato che in condizioni di carenza di tessuto adiposo congenite (sindromi lipodistrofiche congenite) l'estrema insulino resistenza sistemica è largamente sostenuta dalla massiva steatosi epatica che caratterizza questi pazienti; la somministrazione s.c. di leptina a questi individui infatti determina un miglioramento della sensibilità insulinica che è parallelo alla mobilitazione dei lipidi intraepatici (22).

Ruolo della NAFLD nella patogenesi del diabete di tipo 2: NAFLD e β -cellula.

Se da un lato l'associazione tra steatosi epatica e insulino resistenza è robusta e convincente, quella tra steatosi epatica e disfunzione β -cellulare è abbastanza controversa.

Infatti il contenuto intra epatico di trigliceridi correla strettamente con l'iperinsulinemia al mattino a digiuno, ma anche con i livelli a digiuno di C-peptide, un marker più specifico dell'insulina di secrezione β -cellulare (23). Usando un approccio trasversale noi abbiamo osservato come nei soggetti non diabetici il contenuto di trigliceridi intraepatici correla non solo con il grado di insulino resistenza ma anche con parametri di funzionalità pancreatiche indipendentemente dalle caratteristiche antropometriche degli individui suggerendo che sia la resistenza insulinica che la secrezione intra portale di insulina concorrono alla steatosi epatica (24), come confermato dai dati di Kotronen et al. (25) in cui il C-peptide è risultato essere il parametro più strettamente associato al fegato grasso.

Nello sforzo di cercare di identificare alterazioni della funzione β -cellulare in pazienti con fegato grasso dobbiamo ricordare che l'iperinsulinemia riflette probabilmente eventi metabolici che hanno luogo verosimilmente a livello degli organi e tessuti periferici come il tessuto adiposo e il muscolo scheletrico, mentre un C-peptide elevato potrebbe riflettere più da vicino eventi che hanno luogo a livello β -cellulare e portale. Non dobbiamo però neppure dimenticare che il fegato ha un importante ruolo nel metabolismo dell'insulina e nella sua degradazione (26,27); l'iperinsulinemia risultante da una ridotta clearance epatica, infatti potrebbe a sua

volta determinare l'insorgenza di insulino resistenza periferica (tessuto adiposo e muscolo) come dimostrato nei modelli di iperinsulinemia indotta dall'insulinoma (28). A sostegno di questa ipotesi è stato osservato che l'infusione prolungata di octreotide in pazienti cirrotici estremamente insulino resistenti ha corretto l'iperinsulinemia e ha determinato una normalizzazione dell'insulino sensibilità (29).

Ruolo della NAFLD nella patogenesi del diabete di tipo 2: NAFLD e infiammazione

Un altro aspetto comune sia alla NAFLD che al diabete di tipo 2 è l'attivazione dell'infiammazione sistemica di basso grado determinabile a livello sistemico e modulata a livello del tessuto adiposo me verosimilmente anche a livello del fegato stesso. Il fattore che è comune alle due condizioni e che giustifica l'innescio dei processi pro-infiammatori è rappresentato dall'aumentato flusso lipo-

litico che è in grado di attivare a livello intra-cellulare le vie metaboliche dell'infiammazione (NF- κ B) (30). È importante sottolineare che in biopsie epatiche di individui con diabete di tipo 2 il grado di infiltrazione lipidica del fegato era proporzionale all'aumentata espressione di geni coinvolti nei processi di modulazione dell'infiammazione probabilmente a partire dai monociti/macrofagi (31). Si potrebbe ipotizzare che l'eccesso di acidi grassi o di loro metaboliti come diacilglicerolo, acil-coenzima A siano in grado di attivare I κ B chinasi e NF- κ B (32) localmente e che questo processo si rifletta a livello sistemico, come suggerito da alcuni studi nei modelli animali.

Evidenze epidemiologiche che associano la NAFLD all'incidenza del diabete di tipo 2

Gli studi epidemiologici hanno dimostrato che le transaminasi, ed in particolare le elevate ALT e γ -glutamyltransferasi (γ -GT), anche entro il range di normalità, si associano all'incidenza del diabete di tipo 2. Diversi studi prospettici hanno dimostrato che ALT e GGT elevate precedono la manifestazione del diabete (33,34). ALT predice l'insorgenza di diabete di tipo 2 indipendentemente dai fattori di rischio classici e dalla proteina C reattiva (35) e recentemente uno studio di popolazione su larga scala ha dimostrato che anche valori di poco superiori alla norma di ALT predicono la futura insorgenza di diabete (36).

L'uso di marcatori di NAFLD più solidi e robusti delle transaminasi come quelli morfologici (ecografici) predittori di diabete è meno frequentemente riportato in letteratura. In una coorte di individui Coreani la determinazione su base ecografica della NAFLD era predittiva di futuro diabete incidente (37) in modo simile a quello che è stato riportato in una popolazione di casi-controlli Cinese (38) e Giapponese (39). Più recentemente è stata posta l'enfasi sull'utilizzo di markers surrogati di NAFLD. In particolare Bedogni et al hanno proposto il "fatty liver index" (FLI) (40) (quest'ultimo basato sulla conoscenza di BMI, circonferenza vita, trigliceridi e GGT) e Balkau et al il "NAFLD fatty liver score" (41) e in entrambe queste coorti i surrogati predicevano la futura insorgenza del diabete.

NAFLD, diabete di tipo 2 e rischio cardiovascolare

L'importanza della NAFLD nella sindrome metabolica e nel diabete di tipo 2 è robusta (42) e per taluni autori la NAFLD viene considerata la componente epatica della sindrome metabolica (43,44). Il suo ruolo viene però attualmente allargato alla prognosi generale del paziente con diabete; viene infatti ipotizzato che la NAFLD eserciti un effetto sul rischio cardiovascolare con un impatto sulla mortalità anche superiore a quello che potrebbe avere sull'evoluzione della malattia epatica (45,46).

NAFLD e disfunzione endoteliale

L'endotelio delle pareti delle arterie è un bersaglio dei fattori di rischio pro-aterosclerotici. La disfunzione endoteliale costituisce un processo fisiopatologico molto precoce nell'aterosclerosi. La risposta vasodilatatoria arteriosa, mediata dall'ossido nitrico rilasciato dalle cellule endoteliali, può essere sperimentalmente misurata in vivo nell'uomo in modo non invasivo dopo lo stress "di parete" indotto dall'occlusione arteriosa generata dal manicotto dello sfigmomanometro. Villanova et al. (47) hanno misurato questa risposta vasodilatatoria a livello dell'arteria brachiale in pazienti con NAFLD e hanno osservato una ridotta risposta rispetto a dei soggetti di controllo. Inoltre, siccome nei pazienti con NAFLD la diagnosi era basata sull'istologia della biopsia gli autori hanno dimostrato come il difetto fosse più marcato nei pazienti con NASH rispetto a coloro che avevano un "puro" fegato grasso.

Malattia coronarica in pazienti con diabete di tipo 2 e NAFLD

I dati morfologici relativi alla gravità di malattia coronarica nei pazienti con NAFLD presenti in letteratura non sono a tutt'oggi conclusivi. Lautamaki et al. (48) hanno riportato uno studio angiografico eseguito in 55 pazienti con diabete di tipo 2 segregati a seconda che avessero anche un elevato contenuto di trigliceridi intra-epatici o meno, e non hanno dimostrato una più severa malattia coronarica nei pazienti con NAFLD rispetto ai pazienti diabetici senza NAFLD. Più recentemente è stato riportato un lavoro eseguito in 29 soggetti con NAFLD comparati a 32 controlli paragonabili per caratteristiche antropometriche nei quali lo studio è stato eseguito mediante TC coronarica (49). In questo studio i pazienti con NAFLD hanno dimostrato una prevalenza maggiore di placche coronarie calcifiche e non, nonché di stenosi coronariche non ostruttive (34% vs 14%; $P < 0.01$) e la presenza di fegato grasso (quantificata in TC) era strettamente associata alla gravità della malattia coronarica indipendentemente dalla presenza o meno di sindrome metabolica e di markers di infiammazione.

Metabolismo energetico cardiaco in individui con NAFLD

Nello studio citato precedentemente da Lautamaki et al. (48) sono stati eseguiti anche studi mediante utilizzo della PET nei quali l'utilizzo del 2-deossi-2-[18 F]fluoro-D-glucosio ha permesso di valutare selettivamente l'uptake cardiaco di glucosio durante stimolo insulinico dimostrando che i pazienti diabetici con NAFLD avevano una resistenza insulinica cardiaca per il metabolismo del glucosio più marcata rispetto ai soggetti diabetici senza NAFLD. Anche studi di risonanza magnetica in spettroscopia del fosforo hanno dimostrato la presenza di alterazioni del metabolismo dei fosfati ad alta energia in individui con fegato grasso rispetto a soggetti di controllo comparabili per le stesse caratteristiche antropometriche (50).

Evidenze epidemiologiche che associano la NAFLD alla CVD

Rispondere a questa domanda implica la scelta del marcatore di NAFLD che viene preso in considerazione: 1) indiretto, come le transaminasi e GGT, gli algoritmi surrogate che si basano sul calcolo matematico aggiustato per alcuni parametri biochimici, antropometrici o storici del paziente, 2) diretto, morfologico relativo al contenuto intra epatico di lipidi misurato mediante metodiche semi-quantitative (ecografia) o quantitative (risonanza magnetica in spettroscopia del 1H o attenuazione in TC) o 3) diretto morfologico su biopsia con determinazione istologica dell'infiltrato infiammatorio e della eventuale fibrosi.

In letteratura sono disponibili diversi studi che prendono in considerazione la GGT serica ma il più significativo è rappresentato dallo British Regional Heart Study, uno studio prospettico con 6,997 uomini di età compresa tra i 40-59 anni senza storia pregressa di CVD gestiti dai loro "general practitioners" in 24 cittadine Britanniche e osservati per 24 anni. In questa coorte le GGT sono associate ad un aumentato rischio di ictus, malattia coronarica fatale e mortalità cardiovascolare indipendentemente da fattori di rischi classici (Score di Framingham) (51). Uno studio che si è basato sulla NAFLD identificata sulla base ecografica è uno studio di popolazione di 1637 individui Giapponesi nei quali il rischio di malattia coronarica

non fatale, ictus ischemico ed emorragico si associavano alla NAFLD indipendentemente dai fattori di rischio cardiovascolari tradizionali durante i 5 anni di osservazione (52). Una durata simile ha avuto lo studio Verona in una coorte di 248 pazienti con diabete di tipo 2 e 496 controlli comparabili per caratteristiche antropometriche che non avevano CVD al basale ma hanno avuto più frequentemente morte cardiovascolare, infarto del miocardio non fatale, ictus ischemico e procedure di rivascularizzazione se avevano NAFLD (53). Risultati simili sono stati riportati sempre utilizzando la metodica ultrasonografica dal Valpolicella Heart Study (54) e dallo Study of Health in Pomerania (55).

Nel Diabetes Heart Study 623 individui sono stati studiati mediante metodica TC e la steatosi epatica è stata definita come attenuazione fegato:milza < 1 . In questo studio è stata accuratamente misurata anche la quota di tessuto adiposo viscerale, sottocutaneo nonché lo score di calcificazione sia nel distretto coronarico che carotideo e il distretto carotideo con ecografia. Gli autori riportano una mancanza di associazione tra l'attenuazione fegato:milza e i surrogate intermedi di malattia cardiovascolare (56). Nello studio Dijon, 101 pazienti con diabete di tipo 2 sono stati studiati utilizzando la 1H-MRS epatica per la determinazione del contenuto intra epatico dei trigliceridi e l'ecografia per la determinazione dell'Intima-Media-Thickness carotidea in assenza di una significativa associazione tra i due parametri (57). Questo studio è però in contrasto con i dati proposti precedentemente da Targher et al. (58) in una popolazione molto simile nella quale però la presenza di NAFLD è stata oggettivata mediante biopsia epatica e nella quale non solo si trovava un'associazione tra NAFLD e IMT (58) ma anche un IMT più elevata nei pazienti con NASH rispetto a coloro con steatosi epatica semplice (46).

Più recentemente utilizzando il sopra citato FLI (40) abbiamo dimostrato nello studio di popolazione Cremona della durata del periodo di osservazione di 15 anni che individui con FLI più elevato non solo era più elevata la mortalità epatologica (cirrosi e HCC) ma anche la mortalità per tutte le cause, quella cardiovascolare e quella per cancro (59), anche se l'inclusione del surrogato di insulino resistenza HOMA-IR nell'analisi multivariata eliminava il FLI come predittore indipendente per le cause di morte non epatologiche a suggerire la stretta connessione degli effetti lungo termine tra NAFLD ed insulino resistenza.

Ruolo del diabete di tipo 2 nella storia naturale della NAFLD

Allo scopo di chiarire le interazioni che esistono tra NAFLD e diabete di tipo 2 dobbiamo completare la visione che non solo la NAFLD costituisce fattore patogenetico del diabete e delle sue complicanze macrovascolari, ma che in un circolo vizioso il diabete può peggiorare la prognosi epatologica del paziente con NAFLD.

Aspetti fisiopatologici

Originariamente è stato proposto che il danno epatico nei pazienti con NAFLD fosse generato secondo una serie di eventi denominata "two-hits hypothesis" (60). In questa visione il primo insulto sarebbe rappresentato dall'accumulo di trigliceridi nel citoplasma epatocitario che genererebbe a sua volta uno stato di insulino-resistenza sistemica. Il secondo insulto sarebbe rappresentato dallo stress ossidativo conseguente all'accumulo prolungato del substrato con alterato metabolismo degli acidi grassi e disfunzione mitocondriale che determinerebbe la genesi di radicali liberi e i prodotti della perossidazione lipidica con danno di membrana e apoptosi epatocellulare che a sua volta sosterebbe il processo infiammatorio locale che amplificherebbe il processo patologico.

Più recentemente sono stati proposti modelli più complessi detti "multihits" che prevedono l'eccessivo flusso lipolitico dal tessuto adiposo verso il fegato, e l'ostruzione venulare epatica come elementi fondamentali che possono portare alla cirrosi epatica (61). Tilg and Moschen hanno proposto l'ipotesi degli "multiple parallel hits" (62) che enfatizza il ruolo di molti e diversi processi che possono contribuire allo sviluppo dell'infiammazione epatica (eventualmente anche con il contributo della flora batterica intestinale e i suoi prodotti e del tessuto adiposo). Sono due

gli aspetti prognostici epatologici principali che possono affliggere un paziente con diabete di tipo 2: l'evoluzione a cirrosi e l'insorgenza di HCC.

I pazienti con diabete sono spesso sovrappeso/obesi e le adipochine che il tessuto adiposo è in grado di produrre possono mediare i processi di fibrogenesi epatica. In particolare, obesità, diabete e NAFLD possono generare nei loro processi di interazione un cocktail di eventi che scatena l'apoptosi che a sua volta media i processi di infiammazione e fibrosi epatica (63); tra questi eventi contribuiscono non solo l'insulina resistenza, la steatosi e lo stress ossidativo, ma anche il sovraccarico di ferro, l'azione di adipocitochine, il danno di DNA e lo stress del reticolo endoplasmatico (64).

Inoltre, se è vero che la maggior parte dei casi di HCC si manifesta come conseguenza dell'infezione da virus dell'epatite B o C, in circa la metà dei casi viene ipotizzato un ruolo dell'obesità e del diabete di tipo 2, grazie all'azione favorente l'evoluzione a NASH (65).

Gli stessi fattori sopra descritti ad azione pro-fibrogenetica possono mediare un ruolo pro-carcinogenico. In particolare, fosfatidilinositolo 3-chinasi (PI3K)/fosfatasi e l'asse PTEN/Akt possono essere influenzati da tale alterato sistema con uno squilibrio favorente la crescita tessutale, la sopravvivenza, l'apoptosi e la differenziazione. In particolare PTEN un "soppressore" tumorale, che è tipicamente disregolato in condizioni come l'obesità, insulina resistenza e diabete di tipo 2 costituisce la via metabolica che sembra essere oggi maggiormente coinvolta nella patogenesi dell'HCC (66). Questo è un aspetto importante perché alcuni studi sembrano suggerire che l'approccio terapeutico che si instaura nei pazienti con diabete di tipo 2 potrebbe avere una ricaduta sulla prognosi epatologica dei pazienti diabetici con l'insulina e le strategie pro-secretorie che aumentino il rischio di HCC mentre gli insulino sensibilizzanti che la riducono (67,68).

Evidenze cliniche ed epidemiologiche: diabete e cirrosi

Sono soprattutto i dati basati su studi di popolazione Americana di molti anni fa che suggeriscono che il diabete, o anche condizioni più precoci di dis-glicemia come l'intolleranza al carico orale di glucosio, o ancora l'obesità, aumenta il rischio di progressione della fibrosi e di mortalità epatologica tra coloro che hanno una diagnosi di NAFLD (69). Anche i nostri dati di popolazione della regione Veneto suggeriscono l'importanza dell'impatto del diabete sulla mortalità epatologica, anche e soprattutto nei primissimi anni dopo l'insorgenza della malattia (1,2). Questo impatto prognostico sfavorevole del diabete sarebbe addirittura più importante rispetto alla presenza di cirrosi stessa al basale (70,71). Infatti la cirrosi criptogenica, che è largamente associata al diabete, costituisce la terza condizione di indicazione al trapianto di fegato negli Stati Uniti (72).

Diabete e HCC (e colangiocarcinoma)

I dati di prognosi epatologica nei pazienti con diabete sono supportati da molti reports (73) che associano il diabete a HCC (74). A tutt'oggi rimane ancora da chiarire quale sia il ruolo del diabete nella esatta sequenza di eventi patogenetici del HCC. Non è infatti chiaro se l'associazione tra HCC e diabete sia indipendente da altri fattori o passi necessariamente dalla condizione di spiccata fibrosi/cirrosi. Secondo alcuni autori infatti, l'insorgenza di HCC nel paziente con diabete si può manifestare anche in assenza di un precedente passaggio da fibrosi/cirrosi (75,76).

Alcuni dati sembrano inoltre suggerire nei pazienti con NAFLD e diabete/insulina resistenza un rischio più elevato non solo di HCC ma anche di colangiocarcinoma (77).

Diabete e HCV

La prevalenza dell'infezione da virus HCV è più elevata tra i pazienti affetti da diabete che nella popolazione generale ed in particolare la presenza di anticorpi anti HCV è pari al 4.2% tra i diabetici rispetto all'1.6 della popolazione generale (78,79). Questo osservazione è da interpretare in relazione al fatto che pazienti con infezione da HCV sono più predisposti a sviluppare diabete ad esempio rispetto a pa-

zienti che hanno l'infezione da HBV (20% vs 10% circa) suggerendo un effetto specifico dell'infezione da HCV (80). E' possibile che questa predisposizione specificamente legata all'HCV dipenda dalla sua capacità di interferire sul signalling del substrato del recettore insulinico (81), ma è anche noto che dei possibili genotipi dell'HCV, il genotipo 3 potrebbe essere il più importante presumibilmente per la sua capacità di indurre spiccata insulina resistenza (82) in associazione a elevati livelli di TNF-alpha e ridotti livelli di adiponectina che rendono questi pazienti particolarmente predisposti a sviluppare importante steatosi epatica. Non bisogna neppure dimenticare la possibilità di interazione tra l'infezione da HCV e il suo trattamento con interferone e l'insorgenza del diabete.

Diabete e insufficienza epatica acuta

La stretta connessione tra diabete e malattie epatiche è sostenuta anche e dai dati epidemiologici che associano il diabete all'insufficienza epatica acuta e non solo alle malattie epatologiche croniche sopra descritte. L'incidenza di insufficienza epatica infatti è più elevata nei pazienti con diabete rispetto alla popolazione generale (2.31 vs. 1.44 per 10,000 persone-anno) (83). In questa associazione gioca un ruolo fondamentale la terapia farmacologica utilizzata nel trattamento del diabete (84) e la sua potenziale tossicità epatica rimane ancora da chiarire.

Diabete ed epatopatia cronica

La NAFLD è una condizione di rischio elevato di futura insorgenza di diabete di tipo 2 e delle complicanze macro-vascolari ad esso associate

- NAFLD è associata ad insulina resistenza sistemica particolarmente marcata nei pazienti con cirrosi
- 20% dei pazienti con NAFLD/NASH hanno diabete
- 80% dei pazienti con cirrosi hanno diabete o IGT
- la malattia cardiovascolare è la causa principale di morte nei pazienti con NAFLD avanzata
- l'incidenza di eventi cardiovascolari è > nella NAFLD indipendentemente dai fattori di rischio cardiovascolari tradizionali e dalla sindrome metabolica

Il diabete è una condizione di rischio elevato sia di epatopatia cronica metabolica severa (NASH) sia di evoluzione o insorgenza indipendente di fibrosi e HCC

- 50% dei pazienti diabetici hanno NAFLD
- il rischio di fibrosi e HCC è più alto se il paziente è diabetico e diabetico obeso
- i pazienti con diabete di tipo 2 e transaminasi persistentemente elevate dovrebbero eseguire screening per epatiti virali ed in particolare anti-HCV

Box 1

Implicazioni terapeutiche nel paziente con diabete di tipo 2 ed epatopatia cronica

La severità della malattia diabetica e quella della malattia epatica influenza l'approccio alla terapia del diabete. Sono pochi i clinical trias randomizzati che si sono occupati della gestione del paziente diabetico con malattia epatica e con numero di pazienti molto piccolo. Le implicazioni non sono solo da riferire all'efficacia terapeutica ma anche ai potenziali effetti collaterali ed eventi avversi che peggiorano la prognosi epatologica del paziente o che a sua volta la malattia epatica può condizionare a livello sistemico.

Intervento nutrizionale

NAFLD

L'intervento nutrizionale con dieta ipocalorica riduce la steatosi epatica e migliora la sensibilità insulinica epatica nei pazienti con diabete di tipo 2 (85) ma la sua efficacia nel tempo è a tutt'oggi da stabilire. Una dieta ipocalorica a ridotto contenuto di carboidrati piuttosto che a ridotto contenuto di lipidi capace di determinare una riduzione ponderale di 1 kg alla settimana sembra essere un approccio appropriato

(86,87). Rimane da stabilire che una Dieta Mediterranea ricca in carboidrati complessi, acidi grassi mono-insaturi, moderate quantità di vino e basso contenuto di carne rossa potrebbe essere appropriata per i pazienti diabetici con NAFLD (88). L'alcohol dovrebbe essere evitato non solo per la sua tossicità epatica ma anche per la sua densità calorica, nonché per le potenziali interazioni farmacologiche con i farmaci per la cura del diabete, specialmente con le sulfaniluree (89).

Malattia epatica avanzata

La maggioranza dei pazienti con malattia epatica severa è affetto da malnutrizione energetico-proteica. In questi pazienti la cura del diabete è frequentemente complicata o comunque deve tener conto dallo scarso stato nutrizionale che caratterizza il paziente. L'intervento nutrizionale in questo caso deve quindi essere volto a identificare e migliorare i deficit nutrizionali che affliggono questi pazienti.

Terapia farmacologica

Nella maggioranza dei pazienti con malattia epatica la terapia del diabete non differisce da quella dei pazienti senza malattia epatica. Anche se esiste il dubbio teorico che l'alterato metabolismo dei farmaci indotto dalla epatopatia possa rappresentare un problema di sicurezza, ad oggi solo i pazienti con insufficienza epatica conclamata caratterizzati dalla presenza di ascite, alterata coagulazione ed encefalopatia hanno evidentemente un alterato metabolismo dei farmaci. Non esiste neppure evidenza che i pazienti con malattia epatica siano più predisposti ad epatotossicità farmaco-indotta in acuto (90). E' importante comunque ricordare la pochezza dei dati presenti in letteratura in riferimento all'impatto che la terapia farmacologica possa avere sulla evoluzione e severità della malattia epatica nel tempo in condizioni di cronicità.

Metformina

La terapia di prima scelta del diabete, la metformina, non è controindicata nel paziente con NAFLD anche se aveva inizialmente dimostrato qualche beneficio nei pazienti con epatopatia steatosica (91) la sua reale efficacia nel determinare una riduzione del contenuto intraepatico di trigliceridi rimane controversa (92) ed è dimostrato non avere alcun effetto sull'istologia del fegato e non deve essere raccomandata per la terapia della NAFLD. Nei pazienti con cirrosi, sono recenti le osservazioni di un miglior "hard" outcome in termini di sopravvivenza in pazienti con cirrosi HCV-correlata trattati con metformina rispetto alle altre strategie anti iperglicemiche (compreso il solo intervento nutrizionale) (67). Questi studi sono molto interessanti perché anche se eseguiti in un numero ridotto di pazienti hanno garantito un lungo periodo di osservazione e hanno generato notevoli differenze tra il gruppo in metformina vs. quello in qualsiasi altro intervento terapeutico. DA ultimo si deve ricordare che esiste una controindicazione relativa generale all'utilizzo di metformina nei pazienti con malattia epatica avanzata (perché comunque a rischio di ipossiemia) perché potrebbe predisporre ad acidosi lattica.

Sulfaniluree

Le sulfaniluree sono generalmente sicure nei pazienti con epatopatia, ma non sono patogeneticamente efficaci nel correggere l'insulino resistenza e i difetti di secrezione tipici del diabete. Per questo motivo potrebbero essere preferite le sulfaniluree ad emivita breve anche se, specialmente nei pazienti con cirrosi avanzata, la difficoltà a contrastare gli eventi ipoglicemici secondaria alla malattia epatica, impone quando questo tipo di trattamento viene scelto, un attento controllo della risposta alla terapia in termini di auto-monitoraggio della glicemia da parte del paziente.

Inibitori alpha-glucosidasi

L'acarbosio può causare lieve e reversibili incrementi dei livelli di ALT e più raramente malattia epatica severa (93). A dispetto di ciò più recentemente nel tempo

si è osservato che potrebbe essere di particolare utilità nei pazienti diabetici con malattia epatica perché riducendo la digestione e quindi l'assorbimento di glucosio potrebbe essere di aiuto nel contrastare l'iperglicemia post-prandiale che affligge questi pazienti. E' stato riportato un clinical trial in cui l'acarbosio è stato introdotto a pazienti con diabete di tipo 2 e cirrosi non scompensata in terapia insulinica con miglioramento sia della glicemia a digiuno che di quella post-prandiale (94) e un altro trial controllato contro placebo in pazienti con encefalopatia epatica, nei quali l'acarbosio migliorava emoglobina glicosilata e glicemia a digiuno e post-prandiale accompagnati anche da una riduzione dell'ammonio circolante che è stato giustificato come dovuto alla potenziale selezione di batteri saccarolitici invece che proteolitici (95).

Tiazolidinedioni

Il pioglitazone potrebbe essere utile nella terapia della NAFLD proprio per la sua azione insulino-sensibilizzante in relazione al fatto che nella NAFLD il deficit di azione insulinica è l'aspetto metabolico più eclatante. Il dubbio di utilizzo di questa classe di farmaci in relazione alla epatotossicità scatenata dal capostipite troglitazone ritirato dal mercato proprio per questa ragione non sembra aver motivo di essere in relazione al pioglitazone, l'unico principio attivo di questa classe ancora disponibile sul mercato. Questo perché negli studi clinici randomizzati la terapia con pioglitazone si è associata ad incremento delle transaminasi comparabile a quello osservato nel gruppo in placebo o in alcuni casi una riduzione (96). Negli ultimi anni, il pioglitazone si è imposto come strumento farmacologico di trattamento della NAFLD per la sua capacità di ridurre il contenuto intraepatico di trigliceridi, di ridurre le degenerazioni epatocitarie e di ridurre l'infiltrato infiammatorio in almeno due clinical trial randomizzati (97,98).

Da ultimo è abbastanza recente il report secondo il quale l'uso del pioglitazone (e del rosiglitazone) nei pazienti diabetici si è associato ad un rischio ridotto di cancro del fegato rispetto ad altre strategie terapeutiche (68). Questo studio è stato generato dall'analisi di dati relativi a 606583 pazienti di Taiwan con diabete di tipo 2 senza storia di cancro al basale posti in terapia nel 2000 e rivalutati nel 2007.

Inibitori di DPP4

I livelli serici di DPP-4 sono elevati nei pazienti con cirrosi epatica (99) e si ritiene già da molti anni che la ragione sia un'aumentata espressione specifica proprio a livello epatico (100). Più recentemente è stato dimostrato che i livelli di DPP-4 serici sono aumentati anche nei pazienti con epatopatia HCV-correlata (101) e NAFLD (102).

Alcuni studi su modelli animali suggeriscono che la terapia con sitagliptin (103) e linagliptin (104) possano determinare un miglioramento della steatosi ma i dati attualmente disponibili nell'uomo sono pochi. Uno studio riporta un miglioramento delle transaminasi e della degenerazione balloniforme in pazienti con diabete di tipo 2 e NAFLD in terapia con Sitagliptin (105); il pregio dello studio è il disegno longitudinale e il read-out basato sulla biopsia epatica, ma deve essere enfatizzato in fatto che non è stato controllato con un gruppo di controllo e il numero di pazienti era piuttosto contenuto (n=15). In particolare per Linagliptin, che non ha un organo rilevante per la sua metabolizzazione essendo eliminato prevalentemente immodificato, non è necessario aggiustare il suo dosaggio nei pazienti diabetici eventualmente epatopatici anche con grado maggiore di severità dell'epatopatia cronica (106).

GLP1-RA

Il razionale di utilizzo dei GLP1RA è sostenuto dal fatto che nei modelli animali il recettore specifico espresso a livello epatocitario è down-regolato e dal fatto che la terapia con GLP1-RA induce un miglioramento dell'espressione di geni coinvolti nel metabolismo ossidativo degli acidi grassi e migliora l'insulino sensibilità epatica (107). A tutt'oggi però, come per i DPP4-inibitori, i dati disponibili in vivo nell'uomo sono scarsi. A nostra conoscenza esiste un singolo report di somministrazione non

controllata sia di Exenatide che di Liraglutide in un gruppo di 25 soggetti diabetici obesi nei quali il trattamento ha indotto una riduzione del 25% del contenuto intra epatico di trigliceridi misurato mediante 1H MRS (108).

Insulina

La terapia con insulina è necessaria in pazienti con malattia epatica scompensata, ma il fabbisogno insulinico e le modalità di somministrazione possono variare da paziente a paziente e nelle diverse fasi della malattia epatica e quindi nella storia del singolo paziente. In molti pazienti per esempio il fabbisogno insulinico che per molto tempo può essere stato molto elevato per la marcata condizione di insulino resistenza (109) può ridursi anche improvvisamente per la ridotta capacità funzionale del fegato di produrre glucosio tramite la via gluconeogenetica e glicogenolitica. Per questi pazienti è quindi necessaria un'attenta sorveglianza delle glicemia giornaliera per adattare prontamente il fabbisogno insulinico. Nei pazienti con encefalopatia nei quali la dieta è generalmente caratterizzata da alto contenuto di carboidrati, si può spesso osservare iperglicemia post-prandiale che richiede selettivamente l'utilizzo di analoghi rapidi dell'insulina ai pasti.

Terapie concomitanti nel paziente con diabete di tipo 2

Le statine sono comunemente utilizzate nei pazienti con diabete di tipo 2 in prevenzione cardiovascolare primaria/secondaria e terziaria. L'uso di questi farmaci può determinare un piccolo ma transitorio incremento delle transaminasi (110). Il fegato però si adatta con il proseguimento della terapia e non ci sono conseguenze nel lungo termine. Epatotossicità severa e insufficienza epatica da statina sono eventi molto rari (110) e alcuni dati sembrano suggerire un effetto epatoprotettivo in pazienti con transaminasi elevate basamente in pazienti con infezioni HCV-correlate (111). Attualmente i dati a disposizione se non controindicano l'utilizzo delle statine nei pazienti con NAFLD, non indicano neppure il loro utilizzo per il trattamento della epatopatia anche se rimane forte l'indicazione in relazione al rischio vascolare dei pazienti con NAFLD come descritto nello specifico paragrafo.

Gli ACE inibitori sono stati implicati nella possibilità di causare insufficienza epatica fulminante per reazioni epatocellulari ma anche colestatiche (112,113). In modo simile il losartan è stato associato a epatotossicità (114) ma nello stesso tempo è stato utilizzato per il trattamento della NAFLD (115). Non ci sono però raccomandazioni per il monitoraggio degli eventi idiosincrasici sopra descritti.

Anche l'acidoacetilsalicilico è potenzialmente epatotossico, ma solo a dosi elevate e non per quelle comunemente utilizzate nei pazienti con diabete per la prevenzione cardiovascolare.

Problemi aperti: l'identificazione del paziente con fibrosi avanzata

La storia naturale della NAFLD può avere percorsi molto diversi. La semplice steatosi "pura", il "fatty liver" costituisce una condizione clinica benigna mentre la presenza di NASH può evolvere verso condizioni cliniche di malattia epatica severa. Il problema quindi è di tipo diagnostico e si basa sulle indagini da effettuare per stabilire il livello di severità della malattia epatica. E' noto che l'unica procedura diagnostica sufficientemente sensibile e specifica è rappresentata dall'indagine istologica della biopsia epatica. Ciononostante i costi, le potenziali complicanze, l'errore nell'ottenere il campione rendono la procedura poco utilizzata (116). La determinazione delle transaminasi e le metodiche imaging (ecografiche, elastografiche, TC e RM) non sono solide per stabilire la presenza di steatoepatite e fibrosi epatica (117).

Forme di epatopatia steatosica

In questo paragrafo si vuole ricordare che quando nel paziente con diabete di tipo 2 viene identificata la presenza di sospetta NAFLD (generalmente grazie all'esecuzione dell'ecografia addominale o alle transaminasi "mosse") è necessario escludere la presenza delle più comuni cause di epatopatia cronica secondaria (Box 2) che possono presentarsi con steatosi macro- o micro-vescicolare.

Forme comuni di epatopatia steatosica

Forme macrovescicolari

- abuso di alcohol (consumo > 21 nell'uomo e > di 14 nella donna alla settimana di bevande alcoliche) (116)
- emocromatosi (la ferritina modestamente/moderatamente aumentata può essere presente nella NAFLD)
- epatopatie croniche virali (HCV, in particolare genotipo 3)
- lipodistrofia congenita
- nutrizione parenterale, malnutrizione e/o digiuno prolungato
- abetalipoproteinemia
- malattia di Wilson
- farmaci (amiodarone, metotrexate, tamoxifene, corticosteroidi)

Forme microvescicolari

- Sindrome di Reye
- Farmaci (valproato, antiretrovirali)
- Lipodistrofia acquisita (farmaci antiretrovirali)
- Fegato grasso acuto in gravidanza
- Sindrome HELLP
- malattie epatiche autoimmuni (con elevate transaminasi e globuline)
- deficit enzimatici del metabolismo degli acidi grassi (geneticamente determinati)

Box 2

Fattori di rischio della NAFLD

Inoltre, i fattori di rischio della NAFLD che devono poi essere presi in considerazione perché potenzialmente trattabili sono elencati nel Box 3 e sono definiti come stabili o emergenti.

I fattori di rischio per NAFLD

Fattori di rischio stabili

- Obesità
- Diabete tipo 2
- Dislipidemia
- Sindrome metabolica

Fattori di rischio emergenti

- Sindrome Ovaio Policistico
- Ipotiroidismo
- Ipogonadismo
- Ipotiuitarismo
- Sindrome apnee notturne
- Resezione pancreato-duodenale

Box 3

I surrogati di fibrosi avanzata

E' necessario ricordare in area diabetologica che la presenza di sindrome metabolica è un robusto predittore di steatoepatite per cui la persistente alterazione dei parametri biochimici in un paziente diabetico con NAFLD può determinare indicazione alla biopsia epatica, soprattutto quando non si può escludere la presenza competitiva (non escludibile sulla base delle indagini cliniche) di una delle condizioni descritte nel Box 2.

Proprio in relazione alle difficoltà diagnostiche e alle difficoltà a porre indicazione alla procedura diagnostica bioptica, esiste un'area di grande interesse volta a cercare di identificare un surrogato di NASH che si possa ottenere in modo semplice e non invasivo.

Sono stati identificati il NAFLD fibrosis score (algoritmo che si basa sulla conoscenza di età, BMI, iperglicemia, conta piastrine, albumina, rapporto AST/ALT) secondo la formula disponibile su <http://naflD-score.com> (118). Questo score identifica due cut-offs al di sotto dei quali la sensibilità e specificità di escludere la fibrosi avanzata è rispettivamente del 90% e 60% e al di sopra del quale la sensibilità e

specificità di identificare la presenza di fibrosi avanzata è del 67% e 97% rispettivamente.

Esiste poi l'Enhanced Liver Fibrosis Panel (ELF Panel) che si basa sulla determinazione plasmatica di acido ialuronico, TIMP-1, PIIINP e che si caratterizza per sensibilità e specificità rispettivamente dell'80% e del 90% per identificare paziente con fibrosi avanzata (118,119).

La determinazione della citoceratina-18 plasmatica è stato riportato essere un potenziale e promettente biomarker (118,119), ma a tutt'oggi non esiste un cut-off sufficientemente sensibile e specifico per stabilire la presenza di fibrosi avanzata. L'elastografia che misura la consistenza (rigidità e durezza) epatica in modo non invasivo si è mostrato un valido strumento nelle forme secondarie a infezione HBV e HCV. Per la NAFLD la presenza di un significativo spessore della plica adiposa sottocutanea come si riscontra molto spesso nei pazienti diabetici e obesi o con sindrome metabolica rendono la metodica poco sensibile a mano a mano che la si usa in range di BMI crescenti (116).

Surrogati di fibrosi avanzata in studio

- NAFLD fibrosis score
- ELF panel
- Elastografia
- Citoceratina-18

Box 4

Conclusioni

Il diabete di tipo 2 si associa a numerose epatopatie o disordini epatici che vanno dalle alterazioni dei livelli circolanti delle transaminasi, steatosi epatica, steatoepatite, fibrosi/cirrosi, HCC e colangiocarcinoma per arrivare all'insufficienza epatica acuta, senza dimenticare la coeliliatasi. Esiste anche un'associazione a tutt'oggi non meglio spiegata tra diabete di tipo 2 e epatopatia da HCV. Questa associazione è corresponsabile della cattiva prognosi cardiovascolare e metabolica dei pazienti con diabete e sindrome metabolica da un lato e della cattiva prognosi epatologica dei pazienti con diabete.

A dispetto di questa stretta relazione tra epatopatia e diabete le implicazioni relative alla terapia del diabete da un lato e dell'epatopatia dall'altro sono poche e meno che il paziente non sia affetto da insufficienza epatica scompensata.

È possibile che queste scarse implicazioni nella terapia del paziente diabetico con NAFLD dipendano semplicemente dalla paucità di questi dati e rimane alto il bisogno di studi di lunga durata e placebo controllati che aiutino a chiarire gli effetti a breve e lungo termine sul diabete, le sue complicanze micro e macrovascolari nonché sulle complicanze epatologiche delle diverse strategie terapeutiche anti iperglicemia. I pochi studi che cominciano a rendersi disponibili in letteratura sono, da questo punto di vista, molto promettenti.

Referenze

1. Trombetta M, Spiazzi G, Zoppini G et al Type 2 diabetes and chronic liver disease in the Verona diabetes study. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22 (Suppl 2): 24-7.
2. De Marco R, Locatelli F, Zoppini G et al Cause-specific mortality in type 2 diabetes. *The Verona Diabetes Study*. *Diabetes Care* 1999;22:756-61.
3. *Der Diabetes Mellitus*. In Naumyn B. *Notnagels Handbuch*. Wien: A. Holder, 1906.
4. Perseghin G, Mazzaferro V, Sereni LP et al. Contribution of reduced insulin sensitivity and secretion to the pathogenesis of hepatogenous diabetes: effect of liver transplantation. *Hepatology* 2000; 31: 694-703.
5. Megyesi C, Samols E, Marks V. Glucose tolerance and diabetes in chronic liver disease. *Lancet* 1967;2:1051-1056.
6. Conn HO, Schreiber W, Elkington SG et al. Cirrhosis and diabetes. Increased incidence of diabetes in patients with Laennec's cirrhosis. I. *Am J Dig Dis* 1969;14:837-852.
7. Conn HO, Schreiber W, Elkington SG. Cirrhosis and diabetes. Association of impaired glucose tolerance with portal-systemic shunting in Laennec's cirrhosis. *Am J Dig Dis* 1971;16:227-239.
8. Gentile S, Loguerico C, Marmo R et al Incidence of altered glucose tolerance in liver cirrhosis. *Diabetes Res Clin Pract* 1993;22:37-44.
9. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease; A Feature of the Metabolic Syndrome. *Diabetes* 2001; 50:1844-1850.

10. Belcher G, Scherthner G: Changes in liver tests during 1-year treatment of patients with type 2 diabetes with pioglitazone, metformin or gliclazide. *Diabet Med*; 2005; 22:973-979.
11. Lebovitz HE, Kreider M, Freed MI: Evaluation of liver function in type 2 diabetic patients during clinical trials: evidence that rosiglitazone does not cause hepatic dysfunction. *Diabetes Care* 2002; 25:815-821.
12. Angulo P. Non-Alcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346; 1221-1231.
13. 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*. 2002;87:3023-8.
14. Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E et al. Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: sites and mechanisms. *Diabetologia* 2005;48:634-42.
15. Pietilainen KH, Rissanen A, Kaprio J et al Acquired obesity is associated with increased liver fat, intra-abdominal fat, and insulin resistance in young adult monozygotic twins. *Am J Physiol*. 2005;288:E768-74.
16. Petersen KF, Dufour S, Befroy D et al Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2005;54:603-8.
17. Ryssy L, Hakkinen A-M, Goto T et al Hepatic fat content and insulin action on free fatty acids and glucose metabolism rather than insulin absorption are associated with insulin requirements during insulin therapy in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2000;49:749-58.
18. Hwang J-H, Stein DT, Barzilai N et al Increased intrahepatic is associated with peripheral insulin resistance: in vivo MR imaging and spectroscopy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293:E1663-9.
19. Gastaldelli A, Cusi K, Pettiti M et al Relationship between hepatic/visceral fat and hepatic insulin resistance in nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *Gastroenterology* 2007;133:496-506.
20. Stefan N, Kantartzis K, Machann J et al Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. *Arch Intern Med* 68: 1609-1616, 2008.
21. 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*. 2006;291:E697-703.
22. Petersen KF, Arioglu Oral E, Dufour S et al Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. *J Clin Invest*. 2002;109:1345-50.
23. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM et al. Association of non-alcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999;107:450-5.
24. Perseghin G, Caumo A, Lattuada G et al Elevated fasting plasma C-peptide occurs in non-diabetic individuals with fatty liver irrespectively of insulin resistance. *Diabet Med*. 2009;26:847-54.
25. Kotronen A, Westerbacka J, Bergholm R et al Liver fat in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:3490-7.
26. Kotronen A, Vehkavaara S, Seppala-Lindroos A et al Effect of liver fat on insulin clearance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293:E1709-15.
27. Kotronen A, Juorinen L, Tiikkainen M et al Increased liver fat, impaired insulin clearance, and hepatic and adipose tissue insulin resistance in type 2 diabetes. *Gastroenterology*. 2008;135:122-30.
28. Battezzati A, Terruzzi I, Perseghin G et al. Defective insulin action on protein and glucose metabolism during chronic hyperinsulinemia in subjects with benign insulinoma. *Diabetes* 1995;44:837-44.
29. Petrides AS, Stanley T, Matthews DE et al Insulin resistance in cirrhosis: prolonged reduction of hyperinsulinemia normalizes insulin sensitivity. *Hepatology* 1998;28:141-9.
30. Tripathy D, Mohanty P, Dhindsa S et al. Elevation of free fatty acids induces inflammation and impairs vascular reactivity in healthy subjects. *Diabetes* 2003;52:2882-7.
31. Westerbacka J, Kolak M, Kiviluoto T et al. Genes involved in fatty acid partitioning and binding, lipolysis, monocyte/macrophage recruitment, and inflammation are overexpressed in the human fatty liver of insulin-resistant subjects. *Diabetes* 2007;56:2759-65.
32. Perseghin G, Petersen KF, Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance; potential links with inflammation. *Int J Obes* 2003;27:S6-S11.
33. André P, Balkau B, Born C et al. Hepatic markers and development of type 2 diabetes in middle aged men and women: a three-year follow-up study. The D.E.S.I.R. Study. (Data from an Epidemiological Study on the Insulin Resistance syndrome). *Diabetes Metab*. 2005;31:542-50.
34. Fraser A, Thinggaard M, Christensen K, Lawlor DA. Alanine aminotransferase, gamma-glutamyltransferase (GGT) and all-cause mortality: results from a population-based Danish twins study alanine aminotransferase, GGT and mortality in elderly twins. *Liver Int*. 2009;29:1494-9.
35. Sattar N, Scherbakova O, Ford I et al. Elevated alanine aminotransferase predicts new-onset type 2 diabetes independently of classical risk factors, metabolic syndrome, and C-reactive protein in the west of scotland coronary prevention study. *Diabetes* 2004;53:2855-60.
36. Shlomai A, Kariv R, Leshno M et al Large-scale population analysis reveals an extremely low threshold for "non-healthy" alanine aminotransferase that predicts diabetes mellitus. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25:1687-91.
37. Kim CH, Park JY, Lee KU et al Fatty liver is an independent risk factor for the development of type 2 diabetes in Korean adults. *Diabet Med*. 2008;25:476-781.
38. Fan JG, Li F, Cai XB et al Effects of nonalcoholic fatty liver disease on the development of metabolic disorders. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007;22:1086-91.
39. Shibata M, Kihara Y, Taguchi M et al Nonalcoholic fatty liver disease is a risk factor for type 2 diabetes in middle-aged Japanese men. *Diabetes Care*. 2007;30:2940-4.
40. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L et al. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol*. 2006;6:33.
41. Balkau B, Lange C, Vol S, Fumeron F, Bonnet F for Group Study D.E.S.I.R. Nine-year incident diabetes is predicted by fatty liver indices: the French D.E.S.I.R. study. *BMC Gastroenterology* 10:56, 2010.
42. 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.
43. Marchesini G, Moscatelli S, Di Domizio S, Forlani G. Obesity-associated liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93: Suppl 1:S74-S80.

44. Kotronen A, Yki-Järvinen H. Fatty liver: a novel component of the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:27-38.
45. Perseghin G. The role of non alcoholic fatty liver disease in cardiovascular disease. *Dig Dis* 28: 210-213, 2010.
46. Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of Cardiovascular Disease in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med* 2010;363:1341-50.
47. Villanova N, Moscatiello S, Ramilli S et al. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005;42:473-480.
48. Lautamaki R, Borra R, Izzo P, et al: Liver steatosis coexists with myocardial insulin resistance and coronary dysfunction in patients with type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291:E282-E290.
49. Assy N, Djibre A, Farah R et al Presence of coronary plaques in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Radiology* 2010; 254: 393-400.
50. Perseghin G, Lattuada G, De Cobelli F, et al: Increased mediastinal fat and impaired left ventricular energy metabolism in young men with newly found fatty liver. *Hepatology* 2008; 47: 51-58.
51. Wannamethee SG, Lennon L, Shaper AG: The value of gamma-glutamyltransferase in cardiovascular risk prediction in men without diagnosed cardiovascular disease or diabetes. *Atherosclerosis* 2008; 201:168-175.
52. Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is a novel predictor of cardiovascular disease. *World J Gastroenterol* 2007;13:1579-84.
53. Targher G, Bertolini L, Poli F, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and risk of future cardiovascular events among type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2005; 54:3541-6.
54. Targher G, Bertolini L, Rodella S, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is independently associated with an increased incidence of cardiovascular events in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2007; 30:2119-21.
55. Haring R, Wallaschofski H, Nauck M et al Ultrasonographic hepatic steatosis increases prediction of mortality risk from elevated serum gamma-glutamyl-transpeptidase levels. *Hepatology* 2009;50:1403-11.
56. McKimmie RL, Daniel KR, Carr J, et al: Hepatic steatosis and subclinical cardiovascular disease in a cohort enriched for type 2 diabetes: the diabetes heart study. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 3029-3035.
57. Petit JM, Guiu B, Terriat B et al: Nonalcoholic fatty liver is not associated with carotid intima-media thickness in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 4103-4106.
58. Targher G, Bertolini L, Padovani R, et al: Relations between carotid artery wall thickness and liver histology in subjects with non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes Care* 2006; 29: 1325-1330.
59. Calori G, Lattuada G, Ragona F Fatty Liver Index (FLI) and mortality: the Cremona Study in the 15th year of follow up. *Hepatology* 54: 145-152, 2011.
60. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-5.
61. Wanless IR, Shiota K. The pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis and other fatty liver diseases: a four-step model including the role of lipid release and hepatic venular obstruction in the progression to cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 99-106.
62. Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in non-alcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* 2010; 52: 1836-46.
63. Malhi H, Gores GJ. Molecular mechanisms of lipotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 360-9.
64. Loria P, Lonardo A, Anania F. Liver and diabetes. A vicious circle. *Hepatology Research* 2013; 43: 51-64.
65. Starley BQ, Calcagno CJ, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. *Hepatology* 2010; 51: 1820-32.
66. Peyrou M, Bourgoin L, Foti M. PTEN in liver diseases and cancer. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4627-33.
67. Nkontchou G, Cosson E, Aout M et al. Impact of metformin on the prognosis of cirrhosis induced by viral hepatitis C in diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 2601-8.
68. Chang CH, Lin JW, Wu LC, Lai MS, Chuang LM, Chan KA. Association of thiazolidinediones with liver cancer and colorectal cancer in type 2 diabetes mellitus. *Hepatology* 2012; 55: 1462-72.
69. Wanless IR, Lentz JS: Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology* 12:1106-1110, 1990.
70. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005; 129: 113-21.
71. Adams LA, Harmsen S, St Sauver JL et al. Nonalcoholic fatty liver disease increases risk of death among patients with diabetes: a community-based cohort study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1567-73.
72. The U.S. Organ Procurement and Transplantation Network and the Scientific Registry of Transplant Recipients: OPTN/SRTR annual report: table 9.4a: transplant recipient characteristics, 1995 to 2004: recipients of deceased donor livers [Internet], 2 May 2005. Available from [http:// www.optn.org/AR2005/904a_rec_dgn_li.htm](http://www.optn.org/AR2005/904a_rec_dgn_li.htm). Ann Arbor, MI.
73. Emerging Risk Factors Collaboration, Seshasai SR, Kaptoge S, Thompson A et al. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *N Engl J Med* 2011; 364: 829-41.
74. El-Serag HB, Tran T, Everhart JE et al Diabetes increases the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 126:460-468, 2004.
75. Paradis V, Zalinski S, Chelbi E et al. Hepatocellular carcinomas in patients with metabolic syndrome often develop without significant liver fibrosis: a pathological analysis. *Hepatology* 2009; 49: 851-9.
76. Ertle J, Dechêne A, Sowa JP et al. Nonalcoholic fatty liver disease progresses to HCC in the absence of apparent cirrhosis. *Int J Cancer* 2011; 128: 2436-43.
77. Welzel TM, Graubard BI, Zeuzem S et al Metabolic syndrome increases the risk of primary liver cancer in the United States: a study in the SEER/Medicare database. *Hepatology* 2011; 54: 463-71.
78. Simo R, Hernandez C, Genesca J, Jardi R, Mesa J: High prevalence of hepatitis C virus infection in diabetic patients. *Diabetes Care* 19:998-1000, 1996.
79. Lonardo A, Adimolfi LE, Loria P et al Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology* 126:586-597, 2004.
80. Ozyilkan E, Arslan M: Increased prevalence of diabetes mellitus in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 91:1480-1481, 1996.
81. Kawaguchi T, Yoshida T, Harada M et al Hepatitis C virus down-regulates insulin receptor substrates 1 and 2 through upregulation of suppressor of cytokine signaling 3. *Am J Pathol* 165:1499-1508, 2004.
82. Rubbia-Brandt L, Leandro G, Spahr L et al Liver steatosis in chronic hepatitis C: a morphological sign suggesting infection with HCV genotype 3. *Histopathology* 39: 119-124, 2001.
83. El-Serag HB, Everhart JE: Diabetes increases the risk of acute hepatic failure. *Gastroenterology* 122:1822-1828, 2002.
84. Chan KA, Truman A, Gurwitz JH et al A cohort study of the incidence of serious acute liver injury in diabetic patients treated with hypoglycaemic agents. *Arch Intern Med* 163:728-734, 2003.
85. Petersen KF, Dufour S, Befroy D et al Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 54:603-608, 2005.
86. Kang H, Greenon JK, Omo JT et al Metabolic syndrome is associated with greater histologic severity, higher carbohydrate, and lower fat diet in patients with NAFLD. *Am J Gastroenterol* 101: 2247-2253, 2006.
87. Solga S, Alkhrashe AR, Clark JM et al Dietary composition and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 49:1578-1583, 2004.
88. Esposito K, Marfella R, Ciotola M et al Effect of a Mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA* 292:1440-1446, 2004.
89. Burge MR, Zeise TM, Sobhy TA et al Low-dose ethanol predisposes elderly fasted patients with type 2 diabetes to sulfonylurea-induced low blood glucose. *Diabetes Care* 22:2037-2043, 1999.
90. Zimmerman HJ: Drug-induced liver disease. In *Hepatotoxicity: The Adverse Effects of Drugs and Other Chemicals on the Liver*. 2nd ed. Philadelphia, Lippincott Williams and Williams, 1991, p. 430.
91. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G et al Metformin in non-alcoholic steatohepatitis. *Lancet* 358:989-994, 2001.
92. Tiikkainen M, Hakkinen A-M, Korsheninnikova E et al Effects of rosiglitazone and metformin on liver fat content, hepatic insulin resistance, insulin clearance, and gene expression in adipose tissue in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2004; 53:2169-76.
93. Andrade RJ, Lucena MI, Rodriguez-Mendezabal M: Hepatic injury caused by acarbose. *Ann Intern Med* 124:931, 1996.
94. Gentile S, Turco S, Guarino G et al Effect of treatment with acarbose and insulin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus associated with non-alcoholic liver cirrhosis. *Diabetes Obes Metab* 3:33-40, 2001.
95. Gentile S, Guarino G, Romano M et al A randomized controlled trial of acarbose in hepatic encephalopathy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 3:184-191, 2005.
96. Belcher G, Schernthaner G: Changes in liver tests during 1-year treatment of patients with type 2 diabetes with pioglitazone, metformin or gliclazide. *Diabet Med* 22:973-979, 2005.
97. Belfort R, Harrison SA, Brown K et al A Placebo-Controlled Trial of Pioglitazone in Subjects with Nonalcoholic Steatohepatitis. *N Engl J Med* 2006; 355: 2297-307.
98. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV et al Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis *N Engl J Med* 2010; 362:1675-85.
99. Nilius R, Stuehec K, Dietrich R. Changes of dipeptidylpeptidase IV as a membrane marker of lymphocytes in acute and chronic liver diseases—biochemical and cytochemical investigations. *Physiol Res* 1991; 40: 95-102.
100. Matsumoto Y, Bishop GA, McCaughan GW. Altered zonal expression of the CD26 antigen (dipeptidyl peptidase IV) in human cirrhotic liver. *Hepatology* 1992; 15: 1048-1053.
101. Itoh M, Kawaguchi T, Taniguchi E et al. Altered expression of glucagon-like peptide-1 and dipeptidyl peptidase IV in patients with HCV-related glucose intolerance. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 244-251.
102. Miyazaki M, Kato M, Tanaka K et al Increased hepatic expression of dipeptidyl peptidase-4 in non-alcoholic fatty liver disease and its association with insulin resistance and glucose metabolism. *Mol Med Rep* 2012; 5: 729-733.
103. Shirakawa J, Fujii H, Ohnuma K et al Diet-induced adipose tissue inflammation and liver steatosis are prevented by DPP-4 inhibition in diabetic mice. *Diabetes* 2011; 60: 1246-1257.
104. Kern M, Kloting N, Niessen HG et al Linagliptin Improves Insulin Sensitivity and Hepatic Steatosis in Diet-Induced Obesity. *PLoS One* 2012; 7: e38744.
105. Yilmaz Y, Yonal O, Deyneli O et al Effects of sitagliptin in diabetic patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Acta Gastroenterol Belg* 2012; 75: 240-244.
106. Graefe-Mody U, Rose P, Retlich S et al Pharmacokinetics of linagliptin in subjects with hepatic impairment. *Br J Clin Pharmacol* 2012; 'Accepted Article', doi: 10.1111/1365-2125.2012.04173.x.
107. Svegliati-Baroni G, Saccomanno S, Rychlicki C et al. Glucagon-like peptide-1 receptor activation stimulates hepatic lipid oxidation and restores hepatic signalling alteration induced by a high-fat diet in nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int*. 2011 31: 1285-1297.
108. Cuthbertson DJ, Irwin A, Gardner CJ et al Improved Glycaemia Correlates with Liver Fat Reduction in Obese, Type 2 Diabetes, Patients Given Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) Receptor Agonists. *Plos One* 2012; 7: e50117.
109. Petrides AS: Liver disease and diabetes mellitus. *Diabet Rev* 2:2-18, 1994.
110. Tolman KG: The liver and lovastatin. *Am J Cardiol* 89:1374-1380, 2002.
111. Chalasani N, Aljadhey H, Kesterson J et al Patients with elevated liver enzymes are not at higher risk for statin hepatotoxicity. *Gastroenterology* 126:1287-1292, 2004.
112. Rosellini SR, Costa PL, Gaudio M et al Hepatic injury related to enalapril (Letter). *Gastroenterology* 97: 810, 1989.
113. Larrey D, Babany G, Bernuau J et al Fulminant hepatitis after lisinopril administration. *Gastroenterology* 99:1832-1833, 1990.
114. Tabak F, Mert A, Ozaras R et al Losartan-induced hepatic injury. *J Clin Gastroenterol* 34:585-586, 2002.
115. Yokohama S, Yoneda M, Haneda M et al Therapeutic efficacy of an angiotensin II receptor antagonist in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 40:1222-1225, 2004.
116. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE et al The diagnosis and management of NAFLD: practice guidelines of the American Association for the Study of Liver Disease, American College of Gastroenterology and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55: 2005-2023.
117. Sanjal AJ, Brunt EM, Kleiner DE et al End points and clinical trial design for NAFLD. *Hepatology* 2011; 54: 344-353.
118. Angulo P, Hui JM, Marchesini G et al The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology* 2007; 45: 846-854.
119. Wicowska A, Zein NN, Yerian LM et al In vivo assessment of liver apoptosis as a novel biomarker of disease severity in NAFLD. *Hepatology* 2006; 44: 27-33.

Il deficit mitocondriale è coinvolto nel meccanismo fisiopatologico dell'insulinorestenza?

Mitochondrial deficiency is associated with insulinresistance

Goodpaster BH
Diabetes April 2013; 62:1032-35

Deficiency of mitochondria in muscle does not cause insulin resistance

Holloszy JO
Diabetes April 2013; 62:1036-40

Ilaria Dicembrini

Le evidenze scientifiche attualmente disponibili dimostrano che pazienti affetti da diabete tipo 2, soggetti obesi insulinorestenzi ed i figli normopeso, ma insulinorestenzi, di diabetici tipo 2 hanno circa un 30% in meno di mitocondri nel tessuto muscolare rispetto alla popolazione di controllo. Questi dati sembrano sostenere un coinvolgimento mitocondriale nel meccanismo fisiopatologico alla base dell'insulinorestenza. Tuttavia l'opportunità di annoverare il deficit mitocondriale tra i possibili fattori eziologici della ridotta sensibilità tissutale all'insulina è attualmente ampiamente dibattuta, come dimostra questo articolo recentemente pubblicato sulla rivista Diabetes. Goodpaster BH e Holloszy JO, presentano, in questo articolo a due voci, i dati scientifici pro e contro un possibile ruolo causale dei mitocondri nella genesi dell'insulinorestenza. Ancora oggi il meccanismo fisiopatologico alla base della ridotta captazione tissutale di glucosio in seguito a stimolazione da parte dell'insulina, non è completamente conosciuto. Certamente tale condizione può essere determinata da diversi fattori, fattori che possono anche non coinvolgere le tradizionali vie di trasduzione del segnale insulinico. I mitocondri, del resto, non sono attual-

mente più considerati come organuli coinvolti esclusivamente nel metabolismo energetico cellulare. Una compromissione della loro funzione significa non solo una inadeguata produzione di ATP ed un'alterazione dell'ossidazione degli acidi grassi, ma anche una significativa disregolazione di altri processi con effetti sullo stato ossido-riduttivo della cellula, sui livelli di stress ossidativo e sulla liberazione di numerose molecole di segnale (Fig. 1). E' evidente

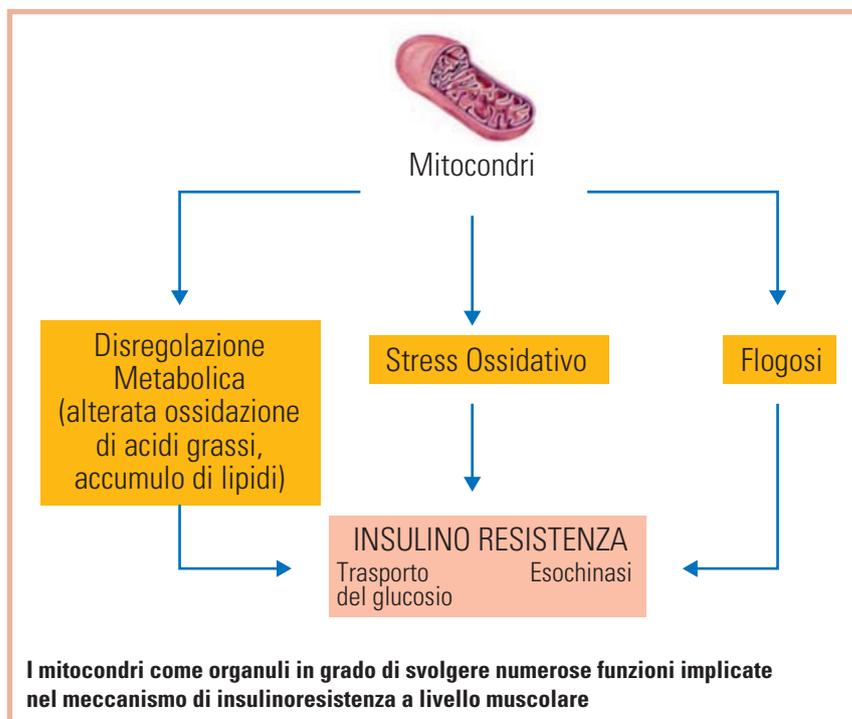


Figura 1

I diabetici tipo 2, i pazienti obesi hanno nel tessuto muscolare circa un 30% meno di mitocondri.

L'associazione tra diabete tipo 2, obesità e deficit mitocondriale è indiscutibile.

Il coinvolgimento del deficit mitocondriale nella patogenesi dell'insulinoresistenza risulta ancora dibattuto.

che per dimostrare che il deficit mitocondriale ha un ruolo causale nella patogenesi dell'insulinoresistenza, è necessario provare che tale difetto precede lo sviluppo di una ridotta sensibilità dei tessuti all'insulina. Tale dimostrazione non può essere ottenuta in soggetti affetti da diabete tipo 2 o obesi, questi soggetti infatti sono insulinoresistenti già molti anni prima dell'esordio clinico della malattia; si è cercato quindi di ottenere evidenze sperimentali in modelli animali. Studi condotti su roditori sottoposti a dieta ad elevato contenuto di grassi, modello sperimentale di diabete di tipo 2/obesità, documentano un precoce sviluppo di insulinoresistenza a livello muscolare associato ad un transitorio aumento del numero dei mitocondri e della loro attività. Questo effetto viene perduto con il progredire della condizione di insulinoresistenza e lo sviluppo di obesità e/o diabete. Anche in modelli animali con mutazioni genetiche in grado di compromettere la funzione mitocondriale a livello muscolare, è stato dimostrato che malgrado il marcato accumulo intracellulare di lipidi, la capacità del tessuto muscolare di captare glucosio in seguito a stimolazione da parte dell'insulina, risulta significativamente aumentata. Queste osservazioni sembrano pertanto confutare il coinvolgimento dei mitocondri nel determinare una riduzione della captazione tissutale di glucosio e della sensibilità all'insulina. E' importante però sottolineare le limitazioni intrinseche ad osservazioni eseguite su modelli animali, che non tengono necessariamente conto della marcata eterogeneità eziologica nell'uomo (fattori genetici, sedentarietà, inadeguato introito alimentare).

Anche nell'uomo tuttavia le evidenze a sostegno di un ruolo causale del deficit mitocondriale nella patogenesi dell'insulino-resistenza non appaiono, allo stato attuale, definitive. Se andiamo infatti ad analizzare gli effetti del calo ponderale indotto mediante restrizione calorica o attività fisica, si vede chiaramente che la riduzione di peso indotta da programmi di esercizio fisico si associa ad un aumento del numero e dell'attività dei mitocondri con conseguente miglioramento della sensibilità tissutale all'insulina. La riduzione

di peso indotta dalla restrizione energetica, al contrario, si associa a miglioramento della insulinoresistenza, senza modificare la capacità mitocondriale; ciò evidenzia come la correlazione tra i due fenomeni sia complessa e non semplicemente riconducibile ad un rapporto di causa-effetto.

Esistono infine recenti evidenze sperimentali che suggeriscono che un aumento della produzione di specie reattive dell'ossigeno a livello mitocondriale, con conseguente incremento dei livelli di stress ossidativo, si associa a insulinoresistenza, reversibile in seguito alla somministrazione di antiossidanti. In particolare sembra svolgere un ruolo chiave la compromissione del trasporto di glucosio mediata dall'enzima esochinasi mediante il coinvolgimento della proteina di interazione con la tioredoxina mitocondriale (TXNIP). Questa proteina, implicata nella patogenesi del diabete tipo 2, è in grado di attivare una cascata di reazioni infiammatorie con evidenti effetti di disregolazione funzionale e strutturale a livello mitocondriale. Ulteriori approfondimenti di questi meccanismi di recente individuazione potrebbero in futuro gettare nuova luce sul ruolo del deficit mitocondriale nell'insulinoresistenza.

Ad oggi, benché il meccanismo eziopatogenetico alla base dell'insulinoresistenza a livello muscolare non sia stato ancora completamente chiarito, l'associazione tra diabete tipo 2, obesità e compromissione della funzione e del numero dei mitocondri è indiscutibile. Le conoscenze relative alle numerose e complesse funzioni di questi organuli ci permettono, allo stato attuale, di considerare il deficit mitocondriale come un quadro estremamente complesso non riconducibile ad una semplice alterazione del metabolismo energetico e del processo di ossidazione degli acidi grassi. Il loro ruolo nel determinare una riduzione della sensibilità tissutale all'insulina rimane tuttavia dibattuto.

Gli acidi biliari, nuovi regolatori del benessere delle beta-cellule pancreatiche

Hepatic glucose sensing is required to preserve β cell glucose competence

Seyer P, Vallois D, Poitry-Yamate C, Schütz F, Metref S, Tarussio D, Maechler P, Staels B, Lanz B, Grueter R, Decaris J, Turner S, da Costa A, Preitner F, Minehira K, Foretz M, Thorens B
J Clin Invest 123:1662-76,2013

Marta Letizia Hribal

La regolazione del metabolismo glicidico è un processo complesso nel quale ha un ruolo centrale la capacità del fegato di rispondere adeguatamente alle variazioni di disponibilità di nutrienti. Il fegato rappresenta infatti sia il principale organo nel quale il glucosio si deposita in seguito ad assunzione di cibo che la principale fonte di tale zucchero in condizioni di digiuno. Secondo una visione classica della fisiologia epatica, il glucotrasportatore GLUT2 è necessario per facilitare l'attraversamento della membrana plasmatica da parte del glucosio in entrambe le direzioni; studi recenti in modelli animali privi di GLUT2 hanno però messo in dubbio questa visione: in assenza di GLUT2 si osservava infatti un normale rilascio di glucosio in condizioni di digiuno, mentre risultava inibito il trasporto dello zucchero all'interno delle cellule in seguito ad assunzione di cibo. Poiché in questi animali l'espressione di GLUT2 era soppressa già a livello embrionale è però possibile che il loro fenotipo fosse dovuto all'attivazione di meccanismi compensatori, Seyer et al. hanno quindi generato un modello animale (LG2KO) in cui, grazie alla presenza di un promotore tessuto specifico attivato esclusivamente dal trattamento con tamossifene, la soppressione di GLUT2 avvenisse solo a livello epatico e potesse essere indotta in animali adulti. Gli animali LG2KO si sviluppavano quindi normalmente durante la vita embrionale e neonatale fino a 6 settimane di età; a quel punto venivano trattati con tamossifene per 3 giorni; il trattamento risultava in una completa soppressione di GLUT2 a livello epatico, mentre tale proteina presentava livelli di espressione paragonabili a quelli degli animali di controllo negli altri tessuti esaminati (Fig. 1A). Una volta indotta, la soppressione era mantenuta nel tempo; GLUT2 risultava infatti assente nel fegato degli animali LG2KO fino a circa 15

settimane dopo l'iniezione di tamossifene (Fig. 1B). Da un punto di vista molecolare nel fegato degli animali LG2KO si osservava un'alterata regolazione del fattore di trascrizione ChREBP che rimaneva prevalentemente localizzato a livello nucleare anche in condizioni di digiuno. L'alterata regolazione di ChREBP si rifletteva in aumentati livelli di espressione dei suoi geni target coinvolti nel controllo del metabolismo lipidico e glicidico (Fig. 1C). Nonostante gli aumentati livelli degli enzimi lipoge-

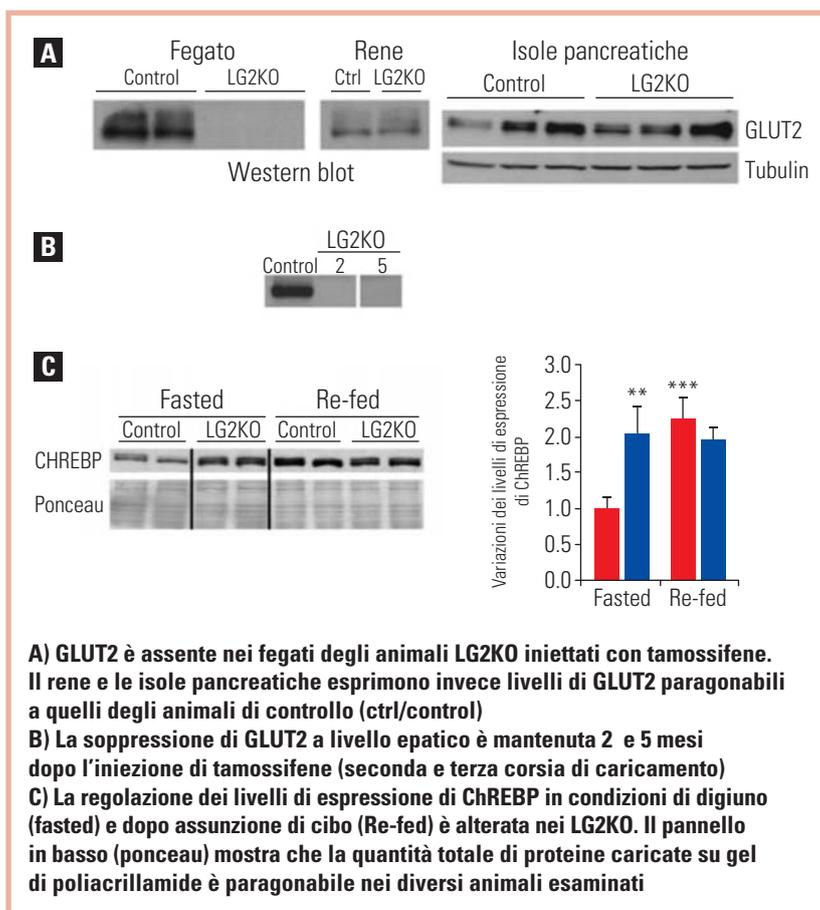


Figura 1

nici i fegati degli animali LG2KO non mostravano però segni di steatosi perché l'assenza di Glut2 risultava paradossalmente protettiva, riducendo l'ingresso di glucosio all'interno delle cellule epatiche e quindi la disponibilità di substrato per la formazione di lipidi. Da un punto di vista metabolico, l'unica alterazione che si riscontrava in animali di 10 settimane (4 settimane dopo l'iniezione di tamossifene) era una più rapida discesa della glicemia nelle prime fasi di digiuno; tale effetto era dovuto ad una ridotta capacità di questi animali di mobilizzare il glucosio epatico. Tutti gli altri parametri (glicemia ed insulinemia in condizioni di digiuno e di libero accesso al cibo e risposta al carico di glucosio) erano normali nei topi LG2KO. Se però i test venivano ripetuti a distanza di 3 mesi (quindi 4 mesi dopo la soppressione di GLUT2) si osservava che gli animali privi di GLUT2 avevano sviluppato intolleranza al glucosio (Fig. 2A). Poiché i livelli di glucagone non erano alterati e la sensibilità insulinica, valutata

Gli acidi biliari svolgono un ruolo fondamentale nella comunicazione tra fegato e beta-cellule pancreatiche.

La pre-incubazione con acidi biliari aumenta la capacità delle beta-cellule di rispondere al glucosio.

tramite clamp euglicemico iperinsulinemico, era normale gli Autori hanno ipotizzato che la ridotta tolleranza glicidica fosse dovuta ad un'alterazione della secrezione insulinica. Per verificare tale ipotesi hanno quindi valutato direttamente la secrezione sia su pancreas intero che su isole isolate ed hanno confermato una significativa riduzione della quantità di insulina secreta dagli LG2KO (Fig. 2B). Il contenuto di insulina e la morfologia pancreatica erano invece normali. Per capire come l'assenza di GLUT2 a livello epatico influenzasse l'omeostasi beta-cellulare gli Autori hanno successivamente eseguito un microarray per avere un quadro completo delle alterazioni geniche presente nei fegati degli animali transgenici ed hanno osservato un'alterazione dei livelli di espressione dei geni coinvolti nella via di biosintesi del colesterolo. Questa osservazione era in accordo con i ridotti livelli epatici di colesterolo riscontrati nei topi LG2KO rispetto agli animali WT in condizioni di digiuno. Poiché il colesterolo può essere convertito in acidi biliari nel fegato, gli Autori hanno misurato anche la concentrazione di questi ultimi nelle feci degli animali transgenici e di controllo, osservando una significativa riduzione della produzione giornaliera di acidi biliari negli LG2KO. Precedenti osservazioni suggeriscono che gli acidi biliari possano modulare la funzionalità beta-cellulare sia promuovendo la secrezione di GLP-1 sia agendo direttamente sulle beta-cellule. Gli Autori hanno quindi misurato i livelli circolanti di GLP-1, ma non hanno riscontrato alcuna differenza; hanno quindi valutato se gli acidi biliari fossero in grado di promuovere la secrezione insulinica acutamente, ma anche in questo caso non hanno osservato alcun effetto. Hanno infine studiato se gli acidi biliari potessero avere un effetto cronico sul benessere beta-cellulare ed hanno osservato che incubando isole pancreatiche in presenza di acido chenodesossicolico, uno dei principali acidi biliari, si osservava un aumento della capacità delle beta-cellule di secernere insulina in risposta al glucosio. Tale fenomeno era assente se l'esperimento veniva condotto in isole prive del recettore X farnesoide, specifico per gli acidi biliari. Questi risultati suggeriscono che gli acidi biliari svolgano la funzione di messaggeri tra il fegato e il pancreas; due organi cruciali nel mantenimento dell'omeostasi metabolica ed evidenziano come i meccanismi che sono alla base di tale delicato equilibrio non siano ancora completamente noti.

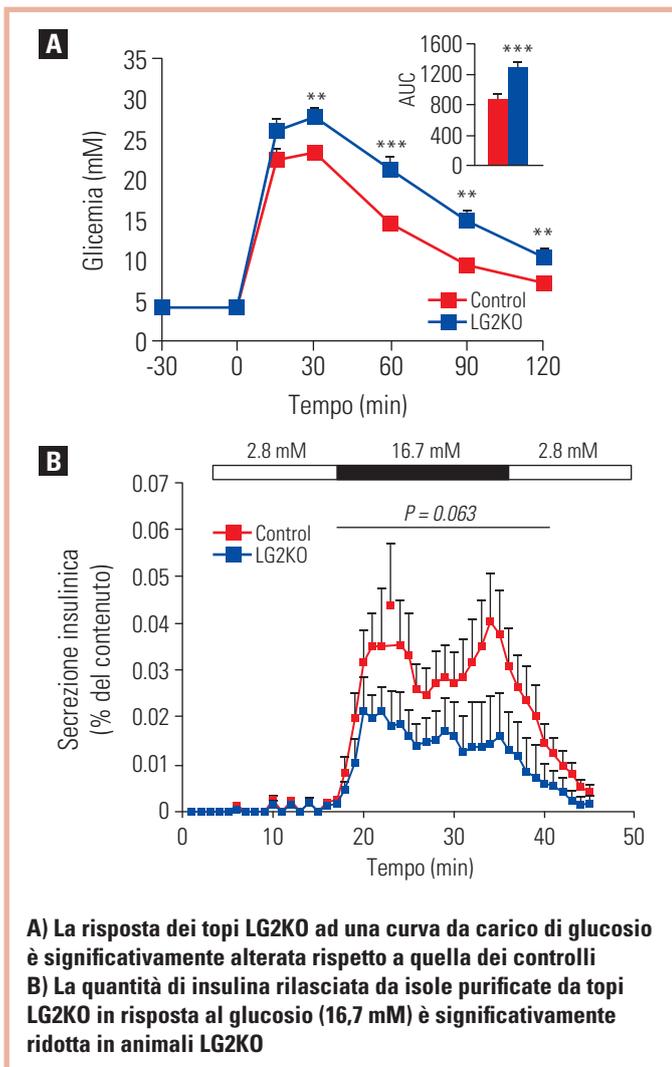


Figura 2

Effetti della terapia insulinica a breve termine nel diabete tipo 2 all'esordio

Short-term intensive insulin therapy in type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis

Kaercher Kramer C, Zinman B, Retnakaran R

The Lancet Diabetes and Endocrinology, published online on January 30, 2013

Mauro Rigato

Il diabete mellito di tipo 2 riconosce due principali meccanismi patogenetici: la resistenza periferica all'azione insulinica e il difetto di secrezione beta cellulare. Quest'ultimo è determinato dall'esposizione cronica a elevati livelli di glicemia (glucotossicità) e di acidi grassi liberi (lipotossicità), che compromette la funzione beta cellulare, inizialmente in modo reversibile, e successivamente in modo irreversibile.

Le conseguenze sul piano clinico e terapeutico sono rappresentate dal progressivo peggioramento del controllo metabolico, e dalla necessità di associare più farmaci ipoglicemizzanti orali, con passaggio definitivo alla terapia insulinica multi-iniettiva nei casi più gravi. Alcuni studi suggeriscono tuttavia che nei pazienti con diabete tipo 2 all'esordio, un iniziale ciclo (2-3 settimane) di terapia insulinica intensiva, potrebbe indurre una fase di "remissione glicemica", caratterizzata dal mantenimento dell'euglicemia per alcuni anni in assenza di terapia farmacologica.

Gli autori della presente metanalisi si sono posti l'obiettivo di definire gli effetti di un breve ciclo di terapia insulinica intensiva, sull'entità dell'insulino-resistenza e sulla funzione beta cellulare nel diabete tipo 2 all'esordio, valutando i possibili predittori clinici di remissione glicemica.

La rassegna della letteratura ha permesso di individuare 1645 studi, ma solo sette (per un numero totale di soggetti esaminati pari a 839) soddisfacevano i seguenti criteri: i) età dei pazienti > 18 anni, ii) diabete tipo 2 all'esordio, iii) disponibilità di dati volti a quantificare l'insulino-resi-

stenza periferica e la funzione beta cellulare, prima e dopo il trattamento insulinico, iv) stima della percentuale di remissione glicemica a lungo termine. Le principali caratteristiche dei singoli studi sono elencate in tabella 1. L'età media dei pazienti era compresa tra 45.8-58.7 anni, i valori medi di emoglobina glicata e BMI al basale tra 9.7-11.9% e 24.0-27.7 kg/mq rispettivamente. La terapia insulinica era somministrata con schema multi-iniettivo (studi 4 e 5 in tabella 1) o mediante infusione sottocutanea

Studio	N°	Disegno	TII	Durata TII (gg)	Età media (anni)	M (%)	BMI (kg/mq)	HbA1c (%)	Follow-up Dopo TII (mesi)	Remissione glicemica
1 LiY et al Diabetes Care 2004; 27:2597-602	126	Intervento, braccio singolo	CSII	14	48.6 (11.6)	61.9	25.1 (3.6)	10.0 (1.9)	24	SI
2 Chen H et al Diab Res Clin Prat 2007; 75:327-32	138	Intervento, singolo braccio	CSII	14	45.8 (7.0)	62.3	25.4 (3.4)	11.9 (2.0)	0	NO
3 Zhao Q et al Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao 2007; 27:1878-9	120	Intervento, singolo braccio	CSII	14	47.0 (12.0)	83.3	24.0 (3.0)	ND	0	NO
4 Chen H et al Diabetes Care 2008; 31:1927-32	22	Randomizzato controllato	MDI	14	58.7 (16.0)	77.3	27.7 (6.5)	11.7 (1.9)	0	NO
5 Weng J et al Lancet 2008; 371:1753-60	251	Randomizzato controllato	CSII MDI	14	50.0 (10.%)	67.3	24.7 (2.8)	9.7 (2.3)	12	SI
6 Chen A et al Diabetes Care 2012; 35:474-81	118	Intervento, singolo braccio	CSII	14-21	51.6 (10.2)	66.0	25.0 (3.0)	11.0 (2.1)	12	SI
7 Liu L et al Diab Technol Ther 2012; 14:756-61	64	Intervento, singolo braccio	CSII	14	49.3 (9.5)	68.7	25.5 (3.5)	11.1 (1.8)	3	SI

TII= tipo di terapia insulinica intensiva; CSII=infusione sottocutanea continua di insulina; MDI= terapia insulinica multi-iniettiva

Caratteristiche degli studi inclusi nella metanalisi

Tabella 1

Un breve periodo di terapia insulinica intensiva migliora la funzione beta cellulare e l'insulino-resistenza nel diabete tipo 2 all'esordio.

Tale approccio favorisce una remissione glicemica a lungo termine, soprattutto in soggetti con più elevati valori di BMI al basale.

continua (studi 1,2,3,5,6,7 in tabella 1) per 14-21 giorni, consentendo il raggiungimento di un buon controllo glicemico in tutti i casi. Solo quattro (studi 1,5,6,7) dei sette studi hanno valutato la prevalenza di remissione glicemica a lungo termine (per un periodo massimo di 24 mesi). La resistenza periferica all'azione insulinica è stata stimata mediante calcolo dell'indice HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance), l'entità della funzione beta cellulare mediante valutazione dell'indice HOMA-B (Homeostasis Model Assessment of Beta cell function).

L'analisi combinata dei sette studi ha evidenziato un significativo incremento dell'indice HOMA-B (1.13, 95% IC 1.02-1.25) e una riduzione dell' HOMA-IR (-0.57, 95% IC -0.84- -0.29) dopo trattamento insulinico intensivo rispetto al basale (figura 1). L'elevata eterogeneità dell'indice HOMA-IR (I²=95.9%;

$p < 0.0001$) è stata ridotta, ma non completamente eliminata, escludendo i due studi^{3,4} contenenti la più alta percentuale di individui maschi (I²=67.7%, $p < 0.03$). I quattro studi (n= 559) che hanno valutato la prevalenza di remissione glicemica dopo la terapia insulinica hanno evidenziato una percentuale di remissione pari a: 66.2% dopo 3 mesi, 58.9% dopo 6 mesi, 46.3% dopo 12 mesi e 42.1% dopo 24 mesi. I pazienti che andavano incontro alla remissione glicemica presentavano al basale un valore più elevato di BMI (1.06 kg/mq, 95% IC 0.55-1.58) e una glicemia a digiuno più bassa (-0.59 mmol/L, 95% IC -1.11- -0.07), rispetto ai non remittenti.

I risultati di questo studio dimostrano come, in pazienti con diabete di tipo 2 all'esordio, un breve ciclo di terapia insulinica intensiva sia in grado di migliorare sia la funzione beta cellulare, che l'insulino-resistenza periferica,

modificando positivamente la storia naturale della malattia. In merito ai possibili meccanismi fisiopatologici, ricordiamo che il progressivo esaurimento della secrezione endogena di insulina riconosce una componente organica irreversibile, e una funzionale reversibile. La prima è determinata dall'apoptosi delle beta cellule, la seconda da una riduzione della loro attività secretiva indotta dall'esposizione persistente all'iperglicemia. Questa condizione definita "glucotossicità" potrebbe giocare un ruolo prevalente all'esordio della malattia diabetica, quando la massa beta cellulare residua è massima. Si comprende pertanto come il precoce miglioramento del controllo glicemico, ottenuto mediante un breve periodo di terapia insulinica intensiva, sia in grado di migliorare la funzione beta cellulare, attraverso una riduzione della glucotossicità.

I principali limiti della presente metanalisi sono rappresentati da: i) utilizzo di studi non randomizzati e controllati, che non permette di definire con certezza se il beneficio ottenuto sia imputabile esclusivamente alla terapia insulinica o anche al miglioramento di altri parametri quali dieta e attività fisica; ii) popolazione prevalentemente orientale, con caratteristiche metaboliche differenti rispetto a quella europea; iii) utilizzo degli indici HOMA-IR e HOMA-B quali surrogati di insulino-resistenza e funzione beta cellulare.

Nonostante tali limiti, il presente studio suggerisce l'efficacia dell'approccio insulinico intensivo per breve periodo in pazienti con diabete all'esordio scompensato (HbA1c >10%), di media età e sovrappeso.

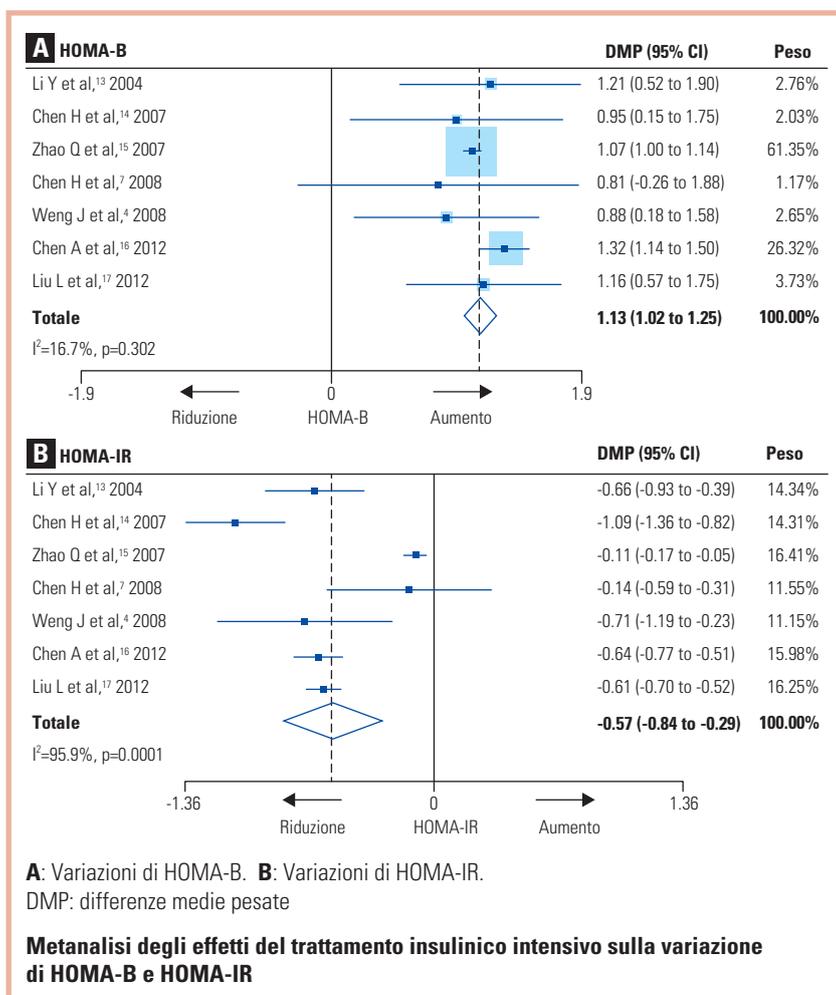


Figura 1

