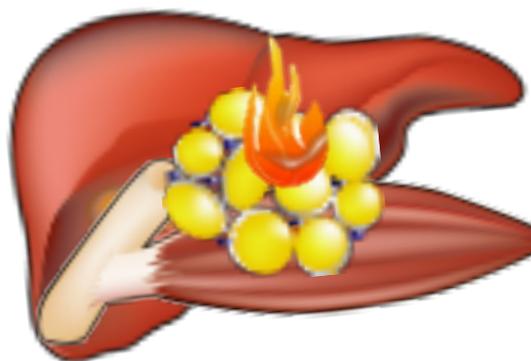




Adiposite e distribuzione del grasso corporeo nella stratificazione del rischio del paziente con diabete di tipo 2



Ilaria Barchetta *MD, PhD*

Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Sapienza Università di Roma

Background I

Eccessivo introito calorico

Remodelling cellulare e strutturale :

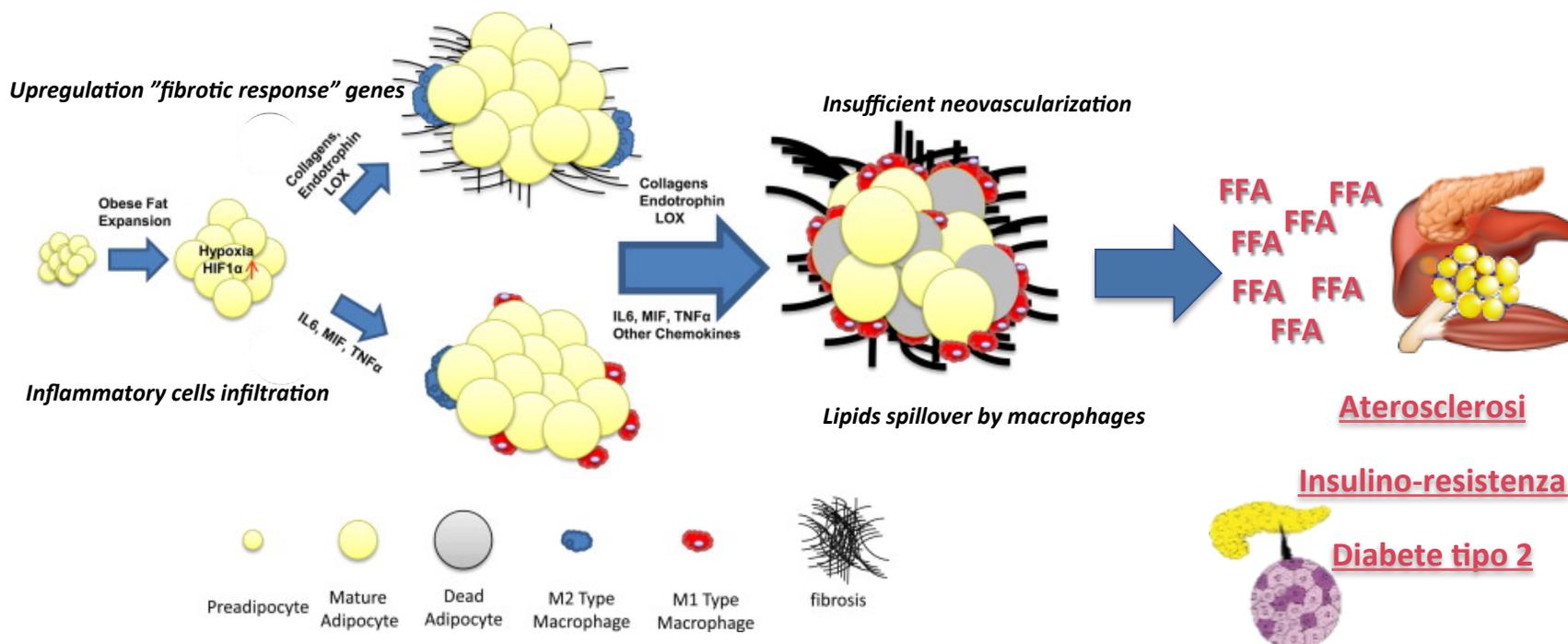
1. Espansione → ipertrofia/iperplasia adipociti
2. Infiltrazione cellule infiammatorie
3. Riarrangiamento vascolarizzazione e ECM

Obesità → Infiammazione sostenuta → Disfunzione TA

1. Alterata secrezione adipochine
2. Anomalo accumulo di lipidi e adipogenesi
3. Fibrosi e insulino-resistenza

Pellegrinelli V et al. *Diabetologia* 2016

Plasticità tessuto adiposo "stressata" dal persistente stimolo infiammatorio

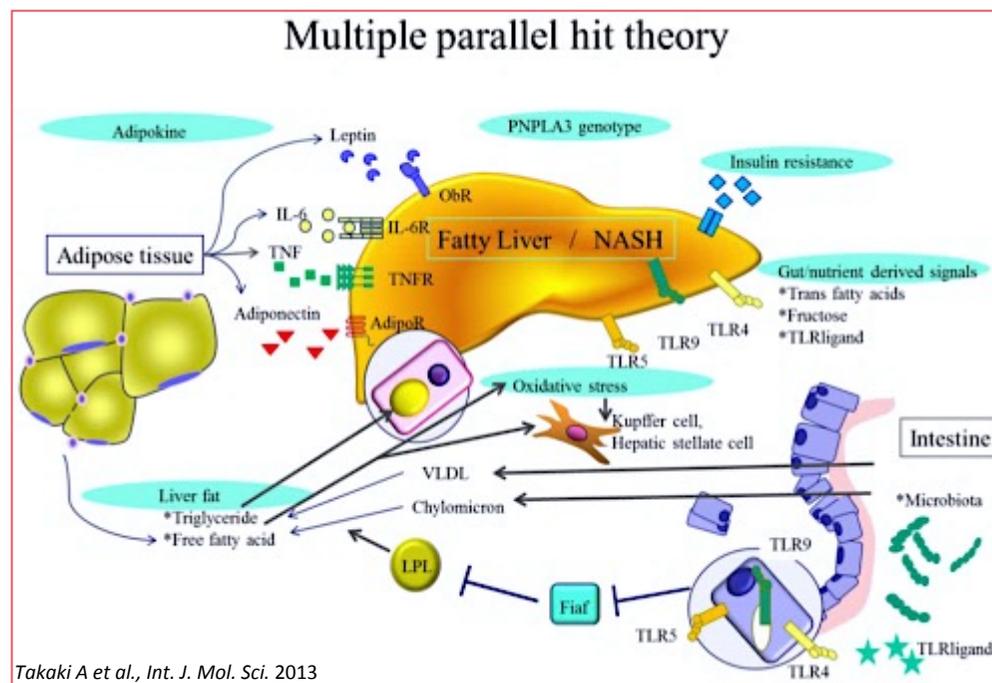


Modified from Sun K et al. *Cell Metabolism* 2013

Background II

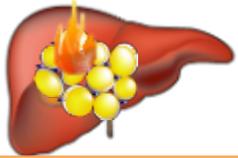
L'eccessivo accumulo di grasso intraparenchimale è caratteristico della steatosi epatica non alcol-correlata (NAFLD), che può evolvere in un quadro di steatoepatite (NASH) e cirrosi.

La NAFLD/NASH è la epatopatia più diffusa al mondo ed è la causa principale di cirrosi epatica criptogenetica



NAFLD e diabete tipo 2

IR centrale, iperglicemia a digiuno, aumento incidenza complicanze micro/macrovaskolari
Peggioramento outcome epatici in presenza di NAFLD + diabete tipo 2



Razionale del progetto



L'infiammazione del tessuto adiposo, l'accumulo di grasso ectopico e le alterazioni metaboliche che ne conseguono costituiscono la premessa per malattie croniche come il diabete, l'aterosclerosi e le malattie cardiovascolari, che rappresentano la prima causa di morte nei paesi occidentali e impattano qualità della vita e la spesa sanitaria.

L'identificazione di marcatori di disfunzione del tessuto adiposo in grado di predire l'accumulo intraparenchimale di grasso e le sue conseguenze metaboliche è un obiettivo primario per una migliore stratificazione del rischio e un interessante punto di partenza per nuove strategie di intervento.

Scopo del progetto



Indagare la relazione tra disfunzione del tessuto adiposo e accumulo di grasso intraparenchimale ed i meccanismi attraverso cui l'adipo-insulinoresistenza influenza la severità della NAFLD e il grado di infiammazione sistemica



Clinical Science

Phenotypical heterogeneity linked to adipose tissue dysfunction in patients with type 2 diabetes

Barchetta Ilaria, Angelico Francesco, Del Ben Maria, Di Martino Michele, Cimini Flavia Agata, Bertocchini Laura, Polimeni Licia, Catalano Carlo, Fraioli Antonio, Del Vescovo Riccardo, Morini Sergio, Baroni Marco Giorgio, Cavallo Maria Gisella

Metodi



Popolazione

67 pazienti consecutivi affetti da T2D

Parametri clinici

Pressione arteriosa, peso, altezza, BMI, circonferenza vita

Profilo metabolico e infiammatorio

Glicemia (FBG), insulinemia basale (FBI), HbA1c, assetto lipidico, FFAs, HOMA- β %, HOMA-IR
PCR, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, TGF- β e TNF- α (BioPlex), adiponectina

Distribuzione grasso

RMN con misurazione area SAT e VAT, %HFF e %PFF

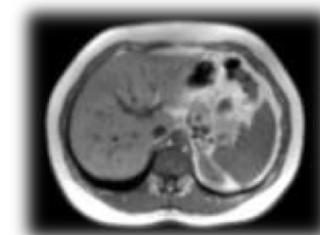
-NAFLD: HFF \geq 5.5% (Gastaldelli A. *et al*, *Gastroenterology* 2007)

Valutazione adiposite/disfunzione tessuto adiposo

Adipose tissue insulin-resistance (ADIPO-IR: FFAs x FBI) (Gastaldelli A. *et al*, *Hepatology* 2009)

Disomogeneità del VAT alla RMN

WISP-1 (Murahovschi V *et al*, *Diabetes* 2015)



T2D e NAFLD: la nostra popolazione



	no NAFLD (n=29)	NAFLD (n=36)	p-value
Eta' (anni)	61.7±8.8	56.2±9.7	0.010
Sesso (M/F)	21/8	26/10	n.s.*
BMI (Kg/m ²)	29.4±4.2	30.4±4.4	n.s.
Circonferenza vita (cm)	100.4±10.2	106.2±14.2	n.s.
Durata T2D (anni)	8.3±8	6±5	n.s.
PAS (mmHg)	133.9±16.6	127.5±16.3	n.s.
PAD (mmHg)	81.8±10.4	81±9.6	n.s.
Colesterolo tot (mg/dl)	176.4±38.1	176.2±36.9	n.s.
HDL-C (mg/dl)	49.9±12.9	48.4±15.1	n.s.
LDL-C (mg/dl)	98.9±31.4	100.7±35.1	n.s.
Trigliceridi (mg/dl)	137.3±59	135±65.8	n.s.
Glicemia (mg/dl)	134.8±46	130.4±32.3	n.s.
HbA1c (%)	6.5±0.9	6.7±1	n.s.
AST (IU/l)	20.8±11.5	26.9±13.3	0.012
ALT (IU/l)	24.3±12.1	39.6±25.2	0.001
AST/ALT	0.92±0.3	0.74±0.2	0.005
γ-GT (IU/l)	32.3±33.2	51.2±61.7	n.s.
Fatty Liver Index	59.3±26.1	70.2±23.3	n.s.
FFA (μmol/l)	484.8±215.5	549.2±281	n.s.
Insulinemia basale (μU/l)	10.2±5.3	14±5.1	0.004
HOMA-IR	3.2±1.9	4.4±1.6	0.025
QUICKI	0.33±0.03	0.31±0.02	0.025
HOMA-β%	70.8±48.8	103.3±72.2	n.s.
ADIPO-IR	5±4.6	7.3±3.9	0.008

I pazienti diabetici con NAFLD (54%) sono *significativamente più giovani* dei pazienti con normale contenuto di grasso intraepatico

Alterazioni significative del *metabolismo insulinico* indipendentemente dal controllo glicemico o dalla durata di malattia



Adipo-IR

Contenuto grasso intraepatico (%)



	Coefficiente di correlazione*	p-value
HOMA-IR	0.32	0.015
ADIPO-IR	0.41	0.002
Eta'	-0.29	0.019
AST	0.49	<0.001
ALT	0.57	<0.001
GGT	0.38	0.002
Insulinemia basale	0.36	0.006
QUICKI	-0.32	0.015
AST/ALT	-0.41	<0.001
BMI	-	n.s.
Circonferenza vita	-	n.s.
VAT	-	n.s.
SAT	-	n.s.
Rapporto VAT/SAT	-	n.s.



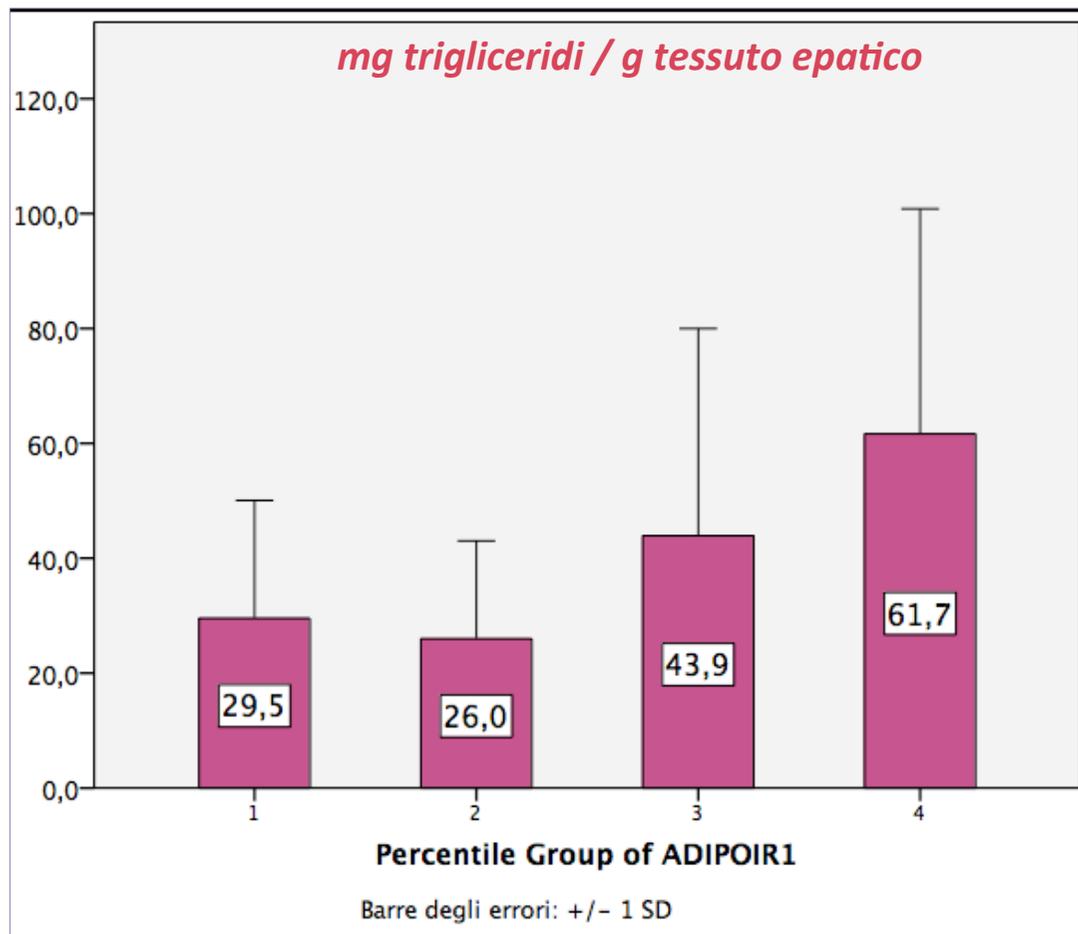
* Bivariate correlation analysis, Spearman's correlation coefficient

NAFLD e ADIPO-insulino resistenza (I)



Il **68%** dei soggetti con elevato ADIPO-IR ha NAFLD, mentre la prevalenza di NAFLD nel gruppo con basso ADIPO-IR e' 39%

OR per NAFLD se ↑ ADIPO-IR: 3.3 (IC: 1.1-9.8, p= 0.032)



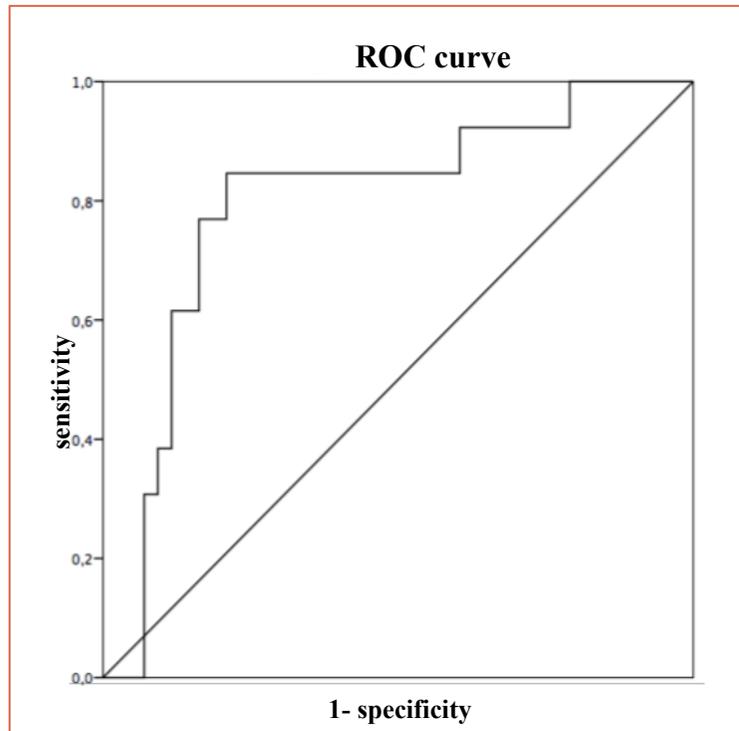
Il contenuto epatico di trigliceridi (mg/g di tessuto epatico) stimato con la *formula di Folch*:

$$5.082 + (432.104 * MRI-HFF)$$

(Jimenez-Aguero et al., BMC Medicine 2014)

aumenta in funzione del grado di insulino resistenza del tessuto adiposo (p= 0.016, sex- age-adjusted p=0.007)

NAFLD e ADIPO-insulino resistenza (II)



ADIPO-IR predice la presenza di NAFLD severa con AUROC=0.796 per valori di ADIPO-IR ≥ 6.9 mmol/L $\cdot\mu$ U/mL

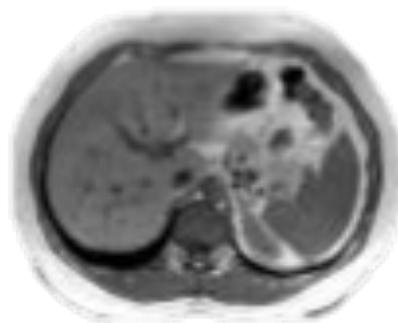
(sensibilità: 84.6%, specificità: 79.1%)

Area	Standard error	Asintotic significance	AUC	
			Asintotic 95% Confidence Interval	
			Lower limit	Upper limit
0.796	0.073	0.001	0.653	0.939

L'analisi di regressione lineare multivariata mostra che l'indice ADIPO-IR e' in grado di predire la quantita' di grasso intraepatico indipendentemente da sesso, età, BMI e insulino-resistenza ($\beta= 0.41$, $p= 0.01$)

Inflammation of adipose tissue and distribution of fat in the parenchyma:

Not only liver





Contenuto grasso intrapancreatico (%)



	Low PFF (%)	High PFF (%)	p-value
Pancreatic fat fraction (PFF, %)	0±2	12.9±5	<0.001
Eta' (anni)	53.9±11.7	63.4±8.8	0.015
Sesso (M/F)	15/1	10/6	0.03*
BMI (Kg/m ²)	27.7±2.6	32.4±5.4	0.005
Circonferenza vita (cm)	97.8±5.4	109.6±15.1	0.007
Durata T2D (anni)	4.5±5	8.2±7.9	n.s.
PAS (mmHg)	121.6±11.8	139.2±22	0.008
PAD (mmHg)	80±7.3	83.9±12.8	n.s.
Colesterolo tot (mg/dl)	175.13±44.3	179.1±44.7	n.s.
HDL-C (mg/dl)	45.4±10	52.3±16.2	n.s.
LDL-C (mg/dl)	100±37.3	99.1±40.7	n.s.
Trigliceridi (mg/dl)	148.2±90.1	137.4±56	n.s.
Glicemia (mg/dl)	124.2±27.9	132.1±41.2	n.s.
HbA1c (%)	6.17±0.7	6.7±0.9	0.05
AST (IU/l)	22.6±7.2	20.01±5.7	n.s.
ALT (IU/l)	34.9±18	24.8±12.4	n.s.
γ-GT (IU/l)	34.3±22.9	37.1±57.8	n.s.
AST/ALT	0.7±0.2	0.9±0.3	0.03
FFA (μmol/l)	484.9±355.7	481.6±181.4	n.s.
Insulinemia basale (μU/l)	12.9±3.9	12.2±4.3	n.s.
FLI	57.2±19.3	71.7±23.2	n.s.
HOMA-IR	3.8±1.2	4±1.8	n.s.
HOMA-β%	97±71.4	82.2±44.3	n.s.
QUICKI	0.32±0.02	0.32±0.04	n.s.
ADIPO-IR	5.8±4.6	5.8±2.8	n.s.
PCR (mg/dl)	<u>1.2±2</u>	<u>4.2±4.5</u>	<u>0.03</u>
Terapia insulinica (n, %)	0/0	3/31%	0.02*

PFF%: 5.2 ± 5

(vs controlli: 3 ± 2; p<0.05)

L'analisi di correlazione

bivariata mostra che una

elevata PFF si associa con:

l'età, il sesso femminile, PCR,

l'obesità, area SAT e VAT

La % di grasso

intrapancreatico non si

associa con presenza di

NAFLD e con il grado di

insulino-resistenza



Contenuto grasso intrapancreatico (%)



Analisi multivariata

L'associazione tra quantità di grasso intrapancreatico e controllo glicemico è indipendente da sesso ed età ed è mediata da un maggior valore di BMI.

Un elevato **BMI** e' il migliore predittore di contenuto di grasso nel pancreas indipendentemente dal sesso, dall'età e dagli altri possibili confondenti ($p < 0.001$)

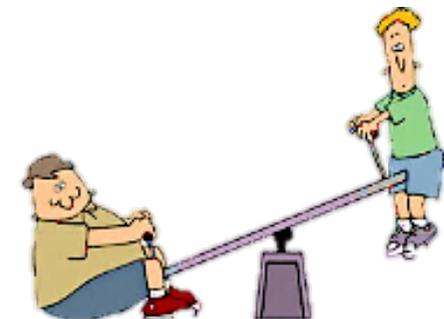


Grasso corporeo e infiammazione sistemica



Nella popolazione diabetica, elevati valori di **PCR** identificano uno specifico fenotipo caratterizzato da:

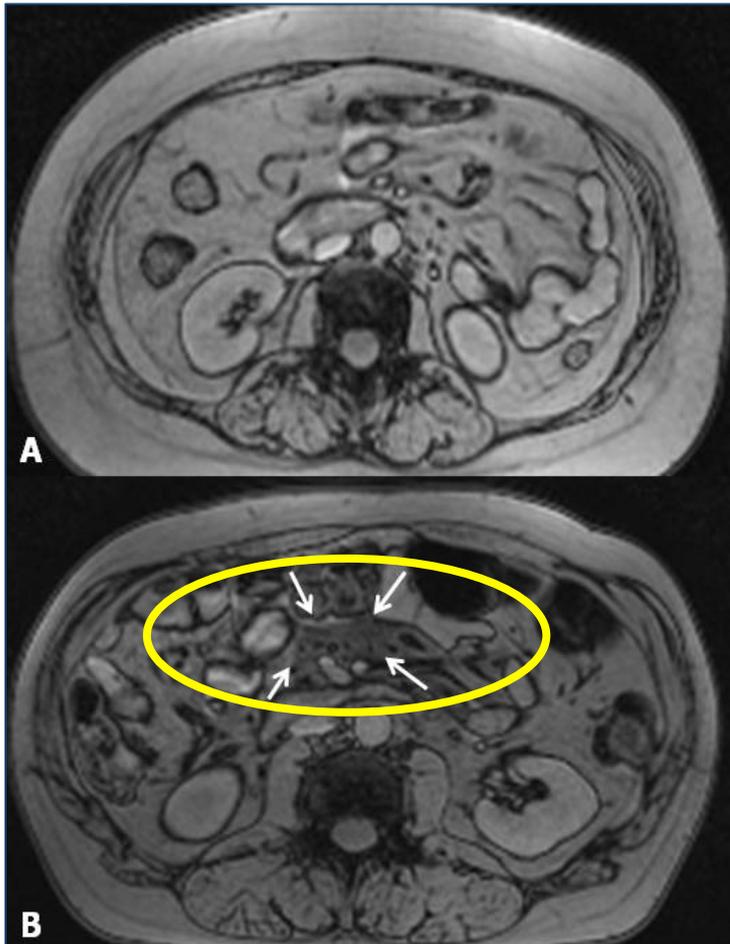
- **Obesità** (BMI: c.c. 0.44, $p < 0.001$) **centrale** (c. vita: c.c. 0.38, $p < 0.003$)
- **SAT** (c.c. 0.5, $p < 0.001$)
- **Elevato ADIPO-IR** (c.c. 0.35, $p < 0.008$)
- **Peggior controllo pressorio** (PAD: c.c. 0.26, $P = 0.04$)
- **Maggior FLI** (c.c. 0.46, $p < 0.001$)



Nella sottogruppo di **soggetti non obesi** ($n = 31 / 48\%$) elevati valori di PCR caratterizzano i pazienti con doppia componente **NAFLD+ADIPO-IR** rispetto ai soggetti con NAFLD, **maggior infiammazione epatica** (AST $p < 0.001$, ALT $p = 0.01$, γ -GT $p = 0.02$) e **aumento dei FFA circolanti** ($p = 0.032$)

Elevati valori di PCR nei pazienti con T2D non obesi sono in grado di predire la presenza di spiccata insulino-resistenza del tessuto adiposo associata a NAFLD e maggior danno epatocitario

Adiposite: una valutazione RMN

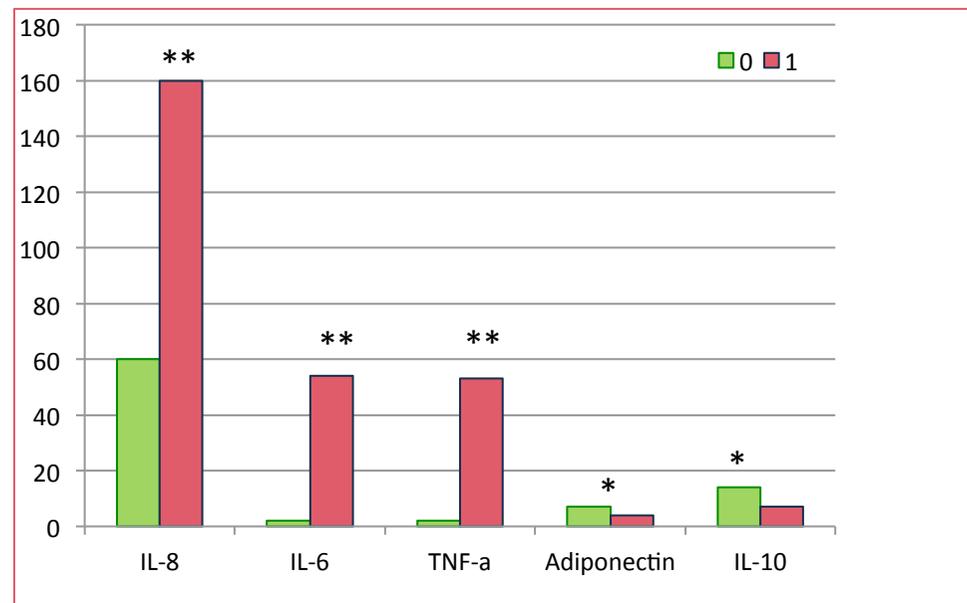


A= VAT normale; B= area VAT ad alterato segnale RMN

3D GRE T1-weighted VIBE sequences on axial plane (TR, 4.7 msec; TE, 2.3 msec; flip-angle, 10°C; matrix, 256x192 mm; section thickness, 5 mm, reconstructed 2.5 mm; intersection gap, 0, elaborated by Slice-O-Matic; Tomovision Inc., Montreal, Canada)

Valutazione variazione (Δ) di intensità di segnale VAT rispetto TA circostante

- Il **13.5%** (n= 9/67) dei pazienti presentava Δ VAT alla RMN
- La presenza di Δ segnale VAT si associa a elevati livelli di IL-8, IL-6, TNF α e ridotte concentrazioni di adiponectina e IL-10



Adiposite: WISP-1

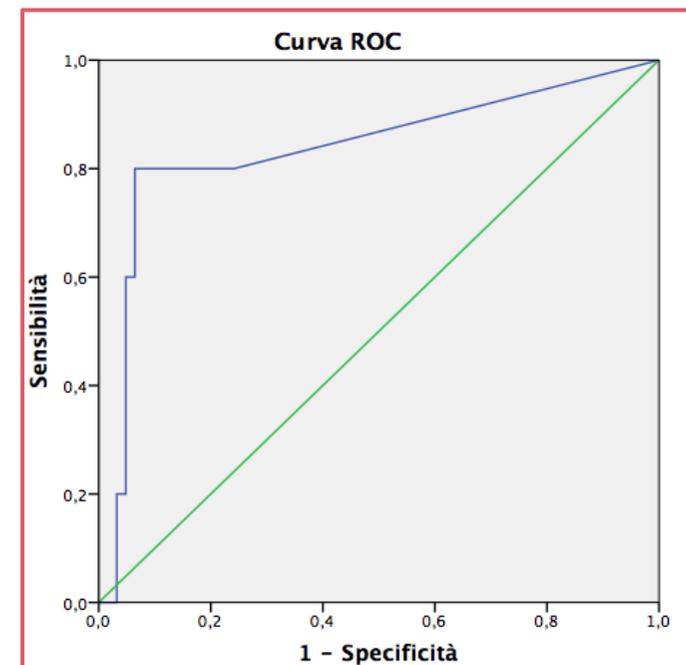


Elevate concentrazioni sieriche di WISP1 si associano ad adiposità principalmente viscerale, con aumento del rapporto VAT/SAT, a elevati livelli circolanti di IL-8, riduzione dell'adiponectina e alla presenza di disomogeneità del segnale del VAT alla RMN

	R di Spearman	p-value
VAT L4/5	0.60	0.003
SAT L3/4	-0.37	0.01
VAT/SAT L3/4	0.48	0.019
Alterazione VAT	0.54	<0.001
IL-8	0.70	<0.001
Adiponectina	-0.25	0.04

AUROC Δ VAT in funzione di WISP-1

0.87, $p < 0.001$



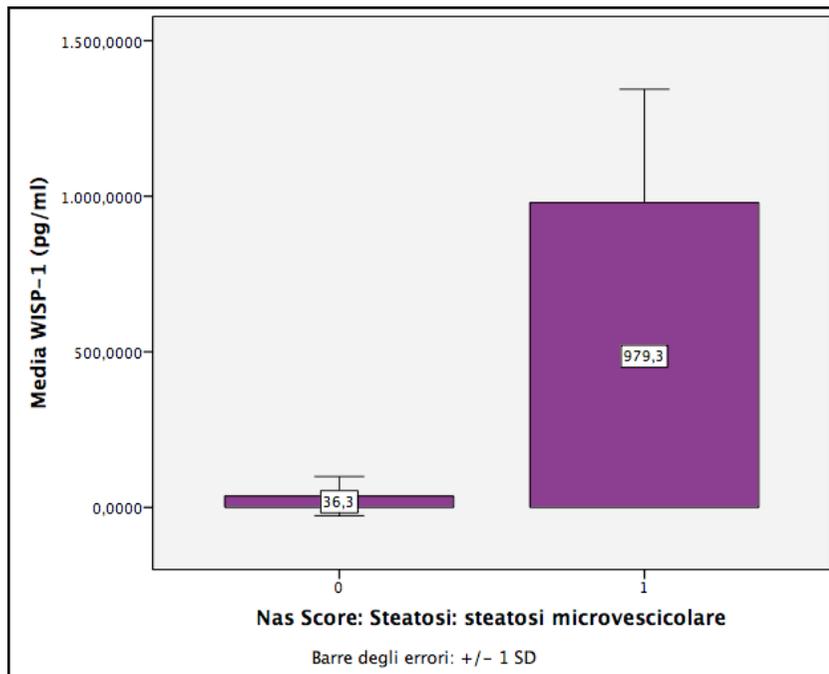
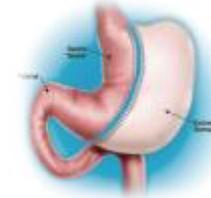
Valutazioni istologiche



Popolazione reclutata al 20 settembre 2016: 44 soggetti candidati alla chirurgia bariatrica con o senza DT2

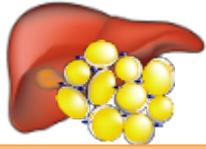
Intervento chirurgico:

- Prelievo campioni bioptici di fegato
- Raccolta tessuto adiposo viscerale



I livelli sierici di WISP-1 correlano con la quantità di grasso intraepatico valutata attraverso NAS STEATOSIS SCORE (p<0.01)

La frequenza di cellule CD68+ nel VAT è maggiore nei pazienti con diabete tipo 2 indipendentemente da sesso, età e BMI (p<0.01)



Messaggi conclusivi (I)



I pazienti con T2D rappresentano una popolazione eterogenea per distribuzione di grasso corporeo

L'insulino-resistenza del tessuto adiposo è un predittore indipendente di NAFLD nei soggetti con DT2 ma non sembra mediare il deposito di grasso nel pancreas

Contrariamente alla % grasso intraepatico, una maggiore % grasso intrapancreatico non si associa nello specifico a un profilo metabolico particolarmente sfavorevole

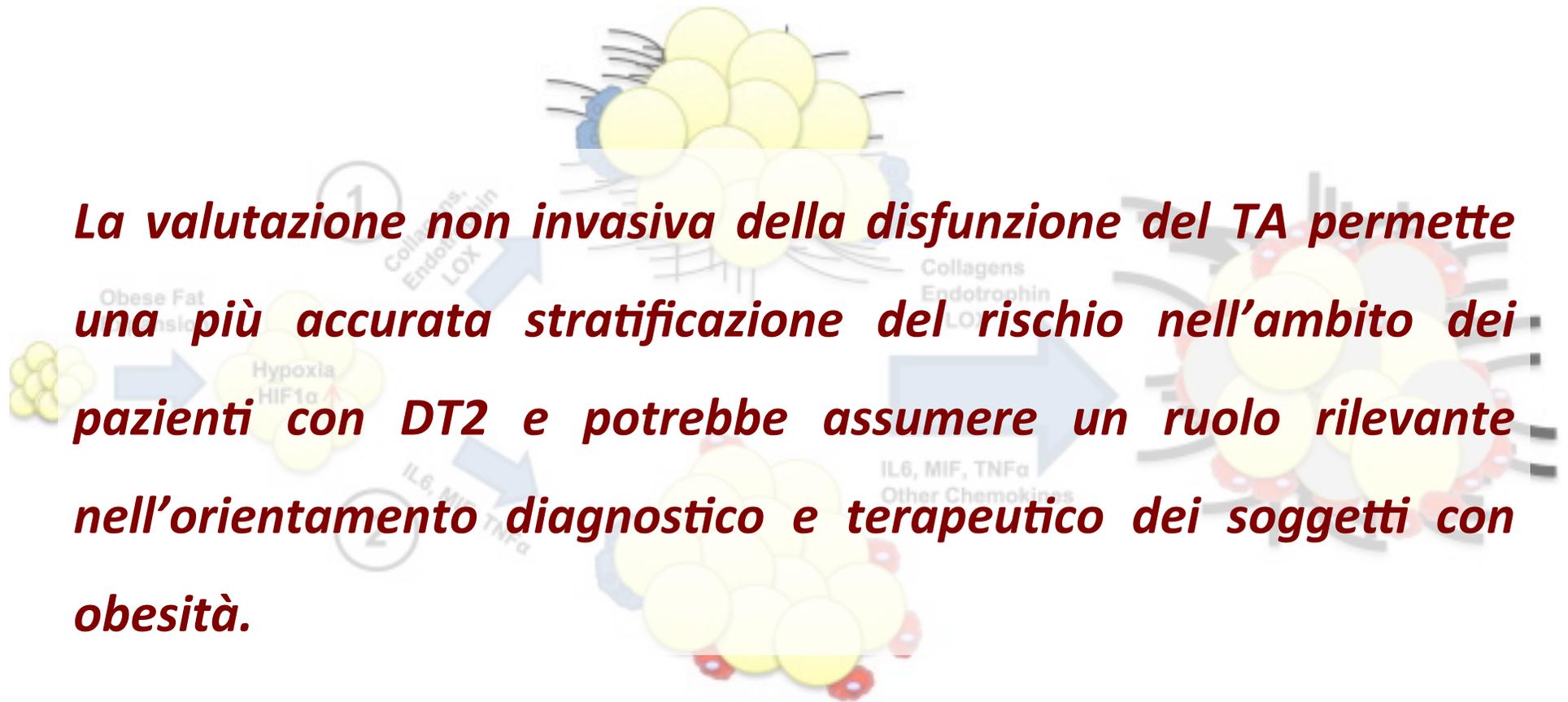
I pazienti con un quadro RMN compatibile con adiposite presentavano un assetto di adipocitochine circolanti spiccatamente pro-infiammatorio



Messaggi conclusivi (II)



La valutazione non invasiva della disfunzione del TA permette una più accurata stratificazione del rischio nell'ambito dei pazienti con DT2 e potrebbe assumere un ruolo rilevante nell'orientamento diagnostico e terapeutico dei soggetti con obesità.



Preadipocyte

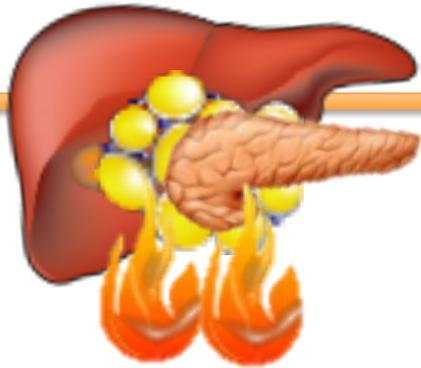
Mature Adipocyte

Dead Adipocyte

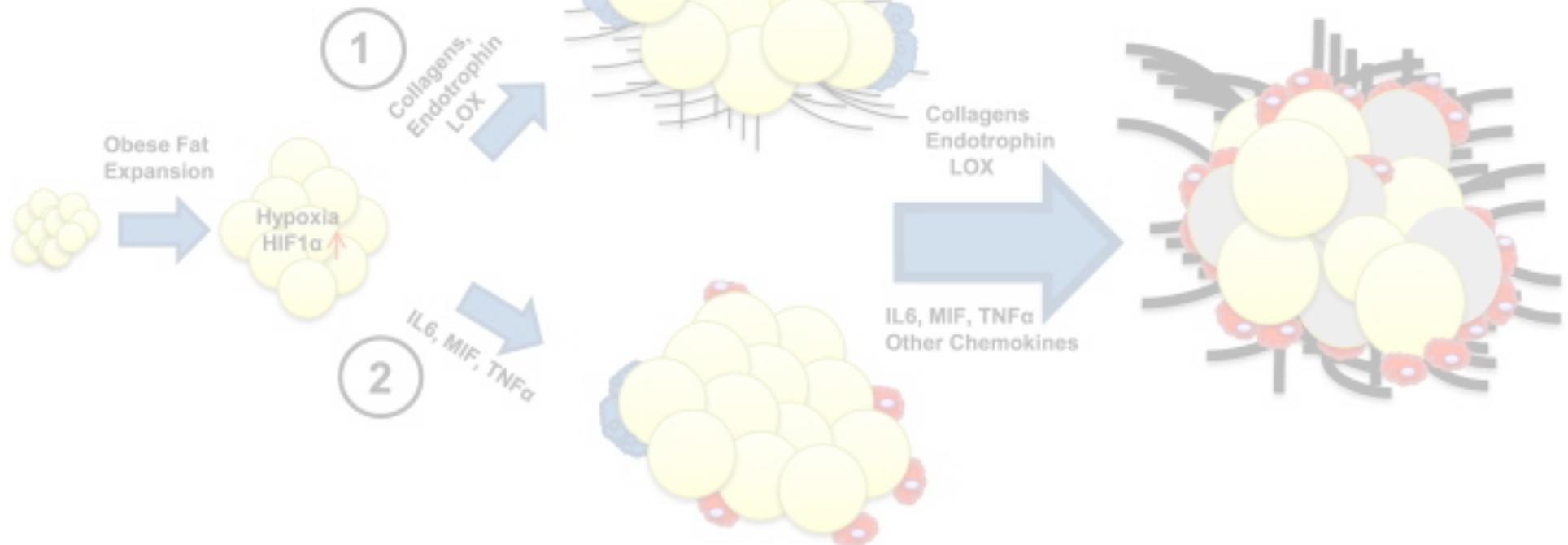
M2 Type Macrophage

M1 Type Macrophage

fibrosis



Grazie dell'attenzione!



Ilaria Barchetta MD, PhD

Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Sapienza Università di Roma