

Lavoro originale

Bassi livelli plasmatici di leptina nel diabete tipo 2 in buon controllo metabolico non sono in relazione con massa grassa e grado di insulino-resistenza

L. Bozzetto¹, R. Giacco², L. Patti¹,
M. Marra¹, D. Viscovo¹, G. Riccardi¹,
A.A. Rivellese¹, G. Annuzzi¹

¹Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università Federico II, Napoli; ²Istituto di Scienze dell'Alimentazione, CNR, Avellino

Corrispondenza: dott. Giovanni Annuzzi, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università Federico II, via Pansini 5, 80131 Napoli
e-mail: annuzzi@unina.it

G It Diabetol Metab 2008;28:131-135

Pervenuto in Redazione il 05-02-2008

Accettato per la pubblicazione il 19-03-2008

Parole chiave: leptina, obesità, diabete mellito tipo 2, insulino-resistenza

Key words: leptin, obesity, type 2 diabetes, insulin resistance

RIASSUNTO

La leptina svolge un ruolo chiave nella regolazione del bilancio energetico nell'uomo e le concentrazioni plasmatiche di leptina sono correlate positivamente con il grado di obesità. Il metabolismo della leptina è in relazione con la secrezione e l'azione dell'insulina. I dati in pazienti con diabete mellito tipo 2 sono piuttosto scarsi e controversi. Questo studio si è proposto di valutare i livelli plasmatici di leptina nel diabete tipo 2 in relazione a obesità e insulino-resistenza, paragonando 3 gruppi di soggetti maschi con obesità e diabete ($n = 10$), solo con obesità ($n = 10$) o normopeso ($n = 10$).

I soggetti obesi con e senza diabete avevano lo stesso grado e tipo di adiposità (IMC $33,0 \pm 2,0$ e $34,5 \pm 2,7$ kg/m²; circonferenza vita 112 ± 8 e 113 ± 7 cm; massa grassa $32,4 \pm 4,1$ e $32,9 \pm 4,9$ kg). Anche l'insulino-resistenza, misurata mediante clamp euglicemico iperinsulinemico, era simile nei diabetici e negli obesi. Le concentrazioni plasmatiche a digiuno della leptina erano significativamente ridotte nei soggetti diabetici rispetto a quelli solo obesi ($9,5 \pm 4,1$ vs $24,3 \pm 10,2$ ng/ml; $p < 0,001$). Nei tre gruppi insieme la leptinemia era correlata positivamente con l'insulinemia a digiuno ($r = 0,71$, $p < 0,001$) e negativamente con l'insulino-sensibilità misurata come M/I ($r = -0,84$; $p < 0,001$). Questi risultati supportano l'ipotesi secondo cui altri fattori, oltre l'obesità e l'insulino-resistenza, probabilmente i ridotti livelli di insulinemia, siano responsabili dei ridotti livelli di leptina nei pazienti diabetici.

SUMMARY

*Low plasma leptin in well controlled type 2 diabetes is not related to body fat mass and whole-body insulin resistance
Plasma leptin concentrations are positively correlated with measures of obesity, and leptin metabolism is interrelated with*

insulin secretion and action. However, data in patients with type 2 diabetes mellitus are somewhat scarce and inconsistent.

We have evaluated plasma leptin levels in type 2 diabetes in relation to obesity and insulin resistance, comparing male subjects with obesity and diabetes ($n = 10$), only obesity ($n = 10$), or normal weight ($n = 10$). Obese subjects with and without diabetes had similar degrees of adiposity (BMI 33.0 ± 2.0 and 34.5 ± 2.7 kg/m²; waist circumference 112 ± 8 and 113 ± 7 cm; and fat mass 32.4 ± 4.1 and 32.9 ± 4.9 kg). Insulin resistance measured by hyperinsulinemic euglycemic clamp was similar in diabetic obese and only obese subjects. Fasting plasma leptin concentrations were significantly lower in the diabetic obese subjects than in the only obese ones (9.5 ± 4.1 vs 24.3 ± 10.2 ng/ml, $p < 0.001$). In the three groups combined, plasma leptin was correlated positively with fasting plasma insulin ($r = 0.71$, $p < 0.001$) and negatively with whole-body insulin sensitivity expressed as M/I ($r = -0.84$, $p < 0.001$).

These results support factors other than obesity and insulin resistance as responsible for the reduced plasma leptin levels per body fat in diabetic patients, relative hypoinsulinemia likely playing a role.

Introduzione

La leptina svolge un ruolo chiave nella regolazione del bilancio energetico nell'uomo. Le concentrazioni plasmatiche di leptina sono correlate positivamente con i parametri che definiscono l'obesità quali l'indice di massa corporea (IMC) e la massa grassa in quanto nell'uomo l'obesità è associata a leptino-resistenza.

Il metabolismo della leptina è in relazione con la secrezione e l'azione dell'insulina¹. È probabile che l'insulina stimoli la produzione di leptina. La risposta insulinica al pasto è, infatti, il principale mediatore delle modifiche dei livelli plasmatici di

leptina osservate durante cicli di digiuno/restrizione calorica e rialimentazione.

I dati che riguardano la relazione tra leptina e diabete mellito tipo 2 sono piuttosto scarsi. È stato riportato che, in pazienti diabetici con obesità di alto grado, lo scarso compenso glicemico è correlato con livelli plasmatici di leptina più bassi rispetto a quanto atteso in base all'IMC². Inoltre, il rapporto leptina/IMC, utilizzato allo scopo di correggere i livelli plasmatici di leptina per il livello di adiposità, si è mostrato ridotto in pazienti con diabete tipo 2 di sesso femminile ma non in quelli di sesso maschile quando confrontati con soggetti di controllo non diabetici³.

Un aspetto particolare della relazione tra concentrazioni plasmatiche di leptina e diabete mellito tipo 2 è il ruolo svolto dall'insulino-resistenza. Tale ruolo è controverso, visto che in uno studio su pazienti diabetici la leptina era associata con livelli più alti di insulino-resistenza indipendentemente dal grasso corporeo⁴, mentre in altri studi in individui non diabetici magri e obesi la leptina era strettamente associata con l'obesità e in maniera meno stringente con l'insulino-resistenza^{5,6}.

Per contribuire al chiarimento di questa problematica, abbiamo valutato i livelli plasmatici di leptina in relazione a diabete mellito tipo 2, obesità e insulino-resistenza.

Materiale e metodi

Soggetti

Hanno partecipato allo studio 10 soggetti con obesità e diabete, 10 con obesità e normale tolleranza al glucosio e 10 normopeso di controllo. Le loro caratteristiche di base sono mostrate nella tabella 1. Tutti i soggetti erano maschi, di età compresa tra 30 e 60 anni, e avevano normali livelli plasmatici a digiuno di trigliceridi e colesterolo.

I partecipanti allo studio non avevano storia o sintomi di

Tabella 1 Caratteristiche fisiche e parametri metabolici dei soggetti partecipanti allo studio.

	Diabetici obesi n = 10	Obesi n = 10	Controlli n = 10
Età (anni)	48 ± 8	46 ± 8	39 ± 8
IMC (kg/m ²)	33,0 ± 2,0*	34,5 ± 2,7*	24,0 ± 1,3
Circonferenza vita (cm)	112 ± 8*	113 ± 7*	85 ± 4
Massa grassa corporea (kg)	32,4 ± 4,1*	32,9 ± 4,9*	13,0 ± 1,5
Trigliceridemia (mg/dl)	98 ± 31	100 ± 30	75 ± 27
Colesterolemia (mg/dl)	170 ± 21	186 ± 32	162 ± 25
Glicemia (mg/dl)	129 ± 35*	88 ± 13	87 ± 9
Insulinemia (mU/L)	13,5 ± 5,7*	15,5 ± 3,7*	7,4 ± 4,2
C-peptidemia (ng/ml)	2,6 ± 0,8*	2,6 ± 1,0*	1,5 ± 0,3
Insulino-sensibilità M/I (mg/kg p.c./min)/(mU/L)·100	2,1 ± 1,2*	1,7 ± 0,8*	7,6 ± 3,4
Leptinemia/IMC	0,28 ± 0,12	0,69 ± 0,26*°	0,20 ± 0,10

IMC: indice di massa corporea. I dati sono espressi come M ± DS; *p < 0,005 vs controlli e °p < 0,005 vs diabetici

patologie note, a parte il diabete e/o l'obesità, non erano vegetariani né eseguivano attività fisica intensa e non assumevano farmaci ipolipidizzanti.

I pazienti diabetici erano tutti in trattamento dietetico e in buon controllo glicemico ($HbA_{1c} = 6,5 \pm 1,5\%$, $M \pm DS$).

Procedure sperimentali

Antropometria e composizione corporea. Peso corporeo, altezza e circonferenza vita sono state misurate secondo procedure standardizzate. La massa magra è stata determinata tramite bioimpedenziometria, usando un'equazione differente per gli obesi e i soggetti normopeso⁷. La massa grassa è stata calcolata sottraendo la massa magra al peso corporeo.

Clamp euglicemico iperinsulinemico⁸. Insulina umana regolare è stata somministrata per via endovenosa alla velocità costante di $1,5 \text{ mU} \cdot \text{kg p.c.} \cdot \text{min}$ per due ore. La glicemia è stata mantenuta intorno a 90 mg/dl aggiustando la velocità d'infusione del glucosio in base alla glicemia misurata con un glucometro Accu-Chek (Roche, Basilea, Svizzera). L'insulino-sensibilità è stata calcolata come velocità media di infusione del glucosio ($\text{mg/kg peso corporeo/min}$) durante gli ultimi 30 minuti del clamp (valore di M) divisa per la corrispondente concentrazione plasmatica di insulina ed espressa come rapporto M/I.

Determinazioni plasmatiche

Le concentrazioni di leptina sono state dosate su plasma conservato a -80°C utilizzando un *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (Bio Vendor Laboratory Medicine, Repubblica Ceca). Le concentrazioni plasmatiche di insulina e C-peptide sono state misurate con metodica ELISA (Technogenetics, Milano, Italia).

Analisi statistica

I dati nel testo sono riportati come media \pm deviazione standard ($M \pm DS$). Le differenze fra i 3 gruppi (diabetici obesi, obesi, controlli) sono state valutate mediante ANOVA e test *post hoc* tra i gruppi (LSD). Le variabili non distribuite normalmente sono state analizzate dopo trasformazione logaritmica. Un valore di $p < 0,05$ (due code) è stato considerato significativo. Le analisi statistiche sono state effettuate in accordo ai metodi standard mediante il software *statistical package for social science* (SPSS).

Risultati

I soggetti obesi con e senza diabete avevano livelli simili di adiposità per quanto riguarda sia la composizione corporea sia la distribuzione del grasso ($IMC 33,0 \pm 2,0$ e $34,5 \pm 2,7 \text{ kg/m}^2$ vs $24,0 \pm 1,3 \text{ kg/m}^2$ nei controlli, $p < 0,001$; circonferenza vita 112 ± 8 e $113 \pm 7 \text{ cm}$ vs $85 \pm 4 \text{ cm}$ nei controlli, $p < 0,001$; massa grassa $32,4 \pm 4,1$ e $32,9 \pm 4,9 \text{ kg}$ vs $13,0 \pm 1,5 \text{ kg}$ nei controlli, $p < 0,001$) (Tab. 1).

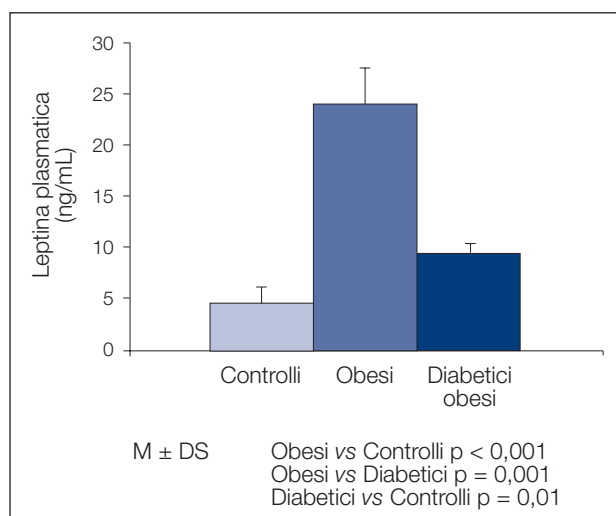


Figura 1 Concentrazione plasmatica di leptina in soggetti normopeso, obesi non diabetici e obesi con diabete tipo 2.

La glicemia a digiuno era significativamente più alta nei pazienti diabetici rispetto agli altri due gruppi, mentre le concentrazioni plasmatiche di insulina e C-peptide erano significativamente più alte nei soggetti obesi con e senza diabete rispetto ai soggetti normopeso di controllo (Tab. 1).

I soggetti diabetici obesi e quelli solo obesi presentavano una riduzione di insulino-sensibilità della stessa marcata entità ($2,1 \pm 1,2$ e $1,7 \pm 0,8$) rispetto ai controlli ($7,6 \pm 3,4$, $p < 0,001$) (Tab. 1).

Le concentrazioni plasmatiche a digiuno della leptina erano significativamente più alte nei soggetti obesi rispetto ai soggetti diabetici e ai controlli sani con una differenza significativa anche tra questi due ultimi gruppi (Fig. 1). Quest'ultima differenza non era significativa quando i livelli di leptina erano corretti per l'IMC (Tab. 1).

Nei tre gruppi insieme i livelli plasmatici di leptina erano correlati positivamente con i livelli plasmatici a digiuno di insulina ($r = 0,71$, $p < 0,001$) (Fig. 2) e negativamente con l'insulino-sensibilità valutata come M/I ($r = -0,84$, $p < 0,001$) (Fig. 3).

Discussione

Questo studio mostra che i soggetti obesi diabetici presentano livelli di leptina più bassi rispetto a quanto atteso in base al loro livello di obesità. Inoltre, quando confrontati con individui obesi con simile composizione corporea, distribuzione del grasso e insulino-sensibilità, essi mostrano valori di leptina plasmatica a digiuno significativamente ridotti. I bassi livelli plasmatici di leptina dei pazienti diabetici non sono spiegati dal grado di controllo glicometabolico, in quanto i pazienti studiati erano in buon compenso glicemico, o dal trattamento farmacologico, in quanto essi non assumevano farmaci ipoglicemizzanti.

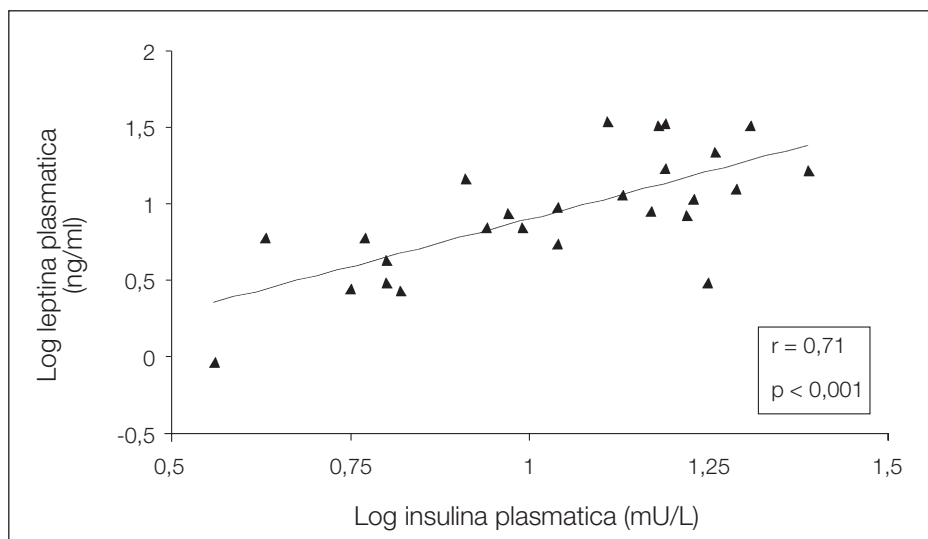


Figura 2 Relazione tra le concentrazioni plasmatiche di leptina e insulina in tutti i soggetti partecipanti allo studio.

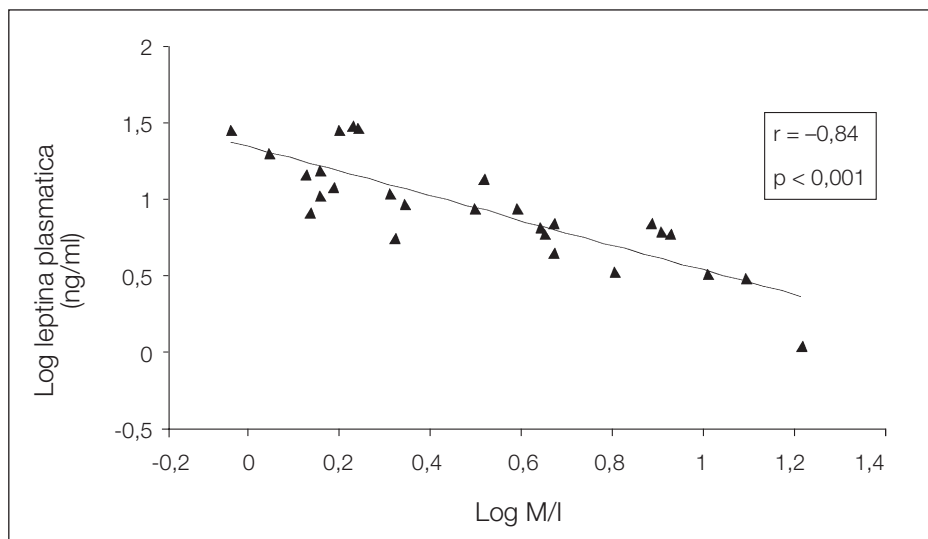


Figura 3 Relazione tra leptinemia e sensibilità insulinica in tutti i soggetti partecipanti allo studio.

I nostri risultati suggeriscono che altri fattori oltre all'obesità e all'insulino-resistenza contribuiscano alla regolazione dei livelli plasmatici di leptina. La ridotta secrezione insulinica, caratteristica dei pazienti diabetici, potrebbe spiegare i ridotti livelli di leptina da noi osservati in questi pazienti², in particolare potrebbe svolgere un ruolo rilevante la perdita nel tempo della pulsilità fisiologica della secrezione insulinica³. Il diverso andamento dei livelli di leptina riportato negli individui insulino-resistenti non diabetici rispetto a quello osservato nei pazienti diabetici⁴⁻⁶ suggerisce che le concentrazioni plasmatiche di leptina potrebbero andare di pari passo con quelle di insulina, che nella storia naturale del diabete tipo 2 presentano un iniziale incremento e una successiva riduzione.

A favore di questa ipotesi vi sono dati che dimostrano che l'insulina e la leptina regolano vicendevolmente la propria produzione a livello trascrizionale. Sembra, infatti, che la lep-

tina abbia effetti sulla secrezione dell'insulina sia inibendola direttamente sia tramite la soppressione della trascrizione del gene dell'insulina⁹. Studi clinici sull'uomo, d'altra parte, hanno dimostrato che l'insulina è in grado di aumentare la produzione di leptina indirettamente stimolandone la trascrizione a livello degli adipociti tramite i prodotti del metabolismo ossidativo del glucosio¹⁰.

Anche le modifiche dei livelli di leptina con il pasto depongono a favore dell'influenza dell'insulinemia su di essi. Infatti, è stato osservato che tre pasti ad alto contenuto in grassi, consumati nell'arco di un giorno, determinano un incremento delle concentrazioni di leptina, nell'ambito delle 24 ore, maggiore di quello determinato da pasti con alto rapporto carboidrati/grassi, che inducono un maggior incremento postprandiale della glicemia e della secrezione insulinica¹¹. In conclusione, i livelli plasmatici di leptina sono ridotti in pazienti con diabete mellito tipo 2 in confronto a soggetti di

pari peso non diabetici. Tuttavia, il significato fisiopatologico di tale riduzione rimane da definire e richiede ulteriori studi, in particolare per definire la possibile relazione tra i ridotti livelli di leptina osservati e l'iperfagia diabetica¹² e per chiarire i possibili effetti dei livelli di leptina sull'incidenza del diabete¹³ e delle malattie cardiovascolari^{14,15}.

Conflitto di interessi

Nessuno.

Bibliografia

- Havel PJ. *Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism*. Diabetes 2004; 53(suppl 1):S143-51.
- Clément K, Lahlou N, Ruiz J, Hager J, Bougnères P, Basdevant A et al. *Association of poorly controlled diabetes with low serum leptin in morbid obesity*. Int J Obes Relat Metab Disord 1997;21(7):556-61.
- Roden M, Ludwig C, Nowotny P, Schneider B, Clodi M, Vierhapper H et al. *Relative hypoleptinemia in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus*. Int J Obes Relat Metab Disord 2000;24(8):976-81.
- Fischer S, Hanefeld M, Haffner SM, Fusch C, Schwanebeck U, Köhler C et al. *Insulin-resistant patients with type 2 diabetes mellitus have higher serum leptin levels independently of body fat mass*. Acta Diabetol 2002;39(3):105-10.
- Vettor R, De Pergola G, Pagano C, Englaro P, Laudadio E, Giorgino F et al. *Gender differences in serum leptin in obese people: relationships with testosterone, body fat distribution and insulin sensitivity*. Eur J Clin Invest 1997;27(12):1016-24.
- Segal KR, Landt M, Klein S. *Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men*. Diabetes 1996;45(suppl 3):988-91.
- Segal KR, Van Loan M, Fitzgerald PI, Hodgdon JA, Van Itallie TB. *Lean body mass estimation by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study*. Am J Clin Nutr 1988;47(1):7-14.
- DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. *Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance*. Am J Physiol 1979;237(3):E214-23.
- Moreno-Aliaga MJ, Stanhope KL, Havel PJ. *Transcriptional regulation of the leptin promoter by insulin-stimulated glucose metabolism in 3T3-L1 adipocytes*. Biochem Biophys Res Commun 2001;283:544-8.
- Mueller WM, Stanhope KL, Gregoire F, Evans JL, Havel PJ. *Effects of metformin and vanadium on leptin secretion from cultured rat adipocytes*. Obes Res 2000;8:530-9.
- Havel PJ. *Peripheral signals conveying metabolic information to the brain: short-term and long-term regulation of food intake and energy homeostasis*. Exp Biol Med (Maywood) 2001; 226:963-77.
- Sindelar DK, Havel PJ, Seeley RJ, Wilkinson CW, Woods SC, Schwartz MW. *Low plasma leptin levels contribute to diabetic hyperphagia in rats*. Diabetes 1999;48(6):1275-80.
- Schmidt MI, Duncan BB, Vigo A, Pankow JS, Couper D, Ballantyne CM et al. *Leptin and incident type 2 diabetes: risk or protection?* Diabetologia 2006;49(9):2086-96. Epub 2006 Jul 19.
- Sierra-Johnson J, Romero-Corral A, Lopez-Jimenez F, Gami AS, Sert Kuniyoshi FH, Wolk R et al. *Relation of increased leptin concentrations to history of myocardial infarction and stroke in the United States population*. Am J Cardiol 2007;100(2): 234-9. Epub 2007 May 30.
- Brennan AM, Li TY, Kelesidis I, Gavrilu A, Hu FB, Mantzoros CS. *Circulating leptin levels are not associated with cardiovascular morbidity and mortality in women with diabetes: a prospective cohort study*. Diabetologia 2007;50(6):1178-85. Epub 2007 Mar 20.