



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CAGLIARI

DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE CARDIOVASCOLARI

CICLO XXIV

Settore scientifico disciplinare di afferenza: malattie del sistema cardiovascolare – Med 11

Insulino-resistenza: caratteristiche cardiometaboliche basali e dopo trattamento con Metformina ed esercizio fisico, da soli o in associazione.

Dottorando: Dr Silvio Nocco

Coordinatore Dottorato: Prof. Francesco Marrosu

Relatore: Prof. Giuseppe Mercurio

Anno Accademico 2010/2011

SOMMARIO

Introduzione	pag. 2
Premesse e ragioni del nostro studio	pag. 21
Materiale e metodo	pag. 24
Risultati	pag. 31
Discussione	pag. 45
Conclusioni	pag. 51
Bibliografia	pag. 52

INTRODUZIONE

Insulino-resistenza

L'insulino-resistenza (o bassa sensibilità insulinica) può essere definita come una condizione in cui le normali quantità di insulina producono una risposta biologica sub-ottimale; essa può coinvolgere diversi organi e tessuti (fegato, muscolo scheletrico e tessuto adiposo) oppure un unico tipo cellulare (ad esempio la cellula muscolare scheletrica).¹ Nel singolo individuo il fenomeno può estendersi a numerosi processi biologici, quali la regolazione dei metabolismi glucidico, lipidico e proteico o essere limitato a poche azioni ormonali, come la regolazione della sintesi di glicogeno e/o dell'ossidazione glucidica.

L'insulino-resistenza ha una base genetica, ma è influenzata anche da fattori acquisiti e/o ambientali. La sua prevalenza è stata stimata intorno al 25% negli USA, con una maggiore frequenza negli uomini rispetto alle donne (23% vs 12%) e un aumento con l'età (>55 anni, 34% maschi; 21% femmine). È stata inoltre evidenziata una prevalenza dell'85% in una popolazione selezionata affetta da disordini metabolici (IGT, NIDDM, dislipidemia, iperuricemia ed ipertensione).²

Eccesso ponderale, localizzazione prevalentemente centrale e, soprattutto, viscerale dell'adipe, dieta iperlipidica, scarsa attività fisica, fumo di sigaretta, alcuni farmaci (glucocorticoidi, diuretici tiazidici, beta-bloccanti) sono tutte condizioni in grado di ridurre la sensibilità insulinica. Su molti fattori è possibile esercitare un efficace intervento terapeutico.

La resistenza all'insulina, con la conseguente iperinsulinemia, è specialmente correlata all'obesità e va aumentando con l'aumentare del grasso addominale. Concorrono a determinare resistenza insulinica la presenza di elevati livelli di acidi grassi liberi (FFA) (lipotossicità),^{3,4} l'iperglicemia, attraverso la produzione di radicali liberi (glicotossicità),⁵ nonché le citochine infiammatorie secrete dagli adipociti.⁶ L'iperinsulinemia, a sua volta, determina una serie di modificazioni dell'assetto lipidico con un aumento degli FFA e dei trigliceridi; infine, l'ipertrigliceridemia tenderebbe a sovraccaricare le HDL che verrebbero

trasformate in piccole HDL attraverso un processo di idrolizzazione; queste sarebbero filtrate dai reni, con riduzione della componente HDL e delle apo-lipoproteine A.

Disponiamo di numerosi test per determinare il grado d'insulino-resistenza. Tutte queste tecniche d'indagine presentano dei limiti o non sono adatte per l'uso clinico di routine. Il test considerato *gold standard* è il *clamp* euglicemico iperinsulinemico. Il principio è quello di incrementare artificialmente i livelli circolanti di insulina mantenendo l'euglicemia con un'infusione costante di glucosio. In breve, la concentrazione plasmatica di insulina viene incrementata e, successivamente, mantenuta stabile ad un livello di circa 100 $\mu\text{U/ml}$ per un periodo di circa 120 minuti. Parallelamente, la glicemia viene mantenuta costante ad un livello basale di circa 90 mg/dl. Una volta raggiunta una condizione stabile, negli ultimi 40 minuti del test, la quantità di glucosio infusa nell'unità di tempo corrisponde alla quantità di glucosio utilizzata dai tessuti periferici, con trasporto dipendente dall'azione dell'insulina e costituisce un indice della sensibilità dei tessuti all'azione stessa dell'ormone.⁷ La quantità di glucosio "speso" nel controbilanciare l'azione insulinemica è espressione della sensibilità periferica all'insulina. Il test è utile per studi fisiologici approfonditi su un esiguo numero di pazienti e risulta di difficile utilizzo nella pratica clinica corrente.

La relazione tra glicemia ed insulina è ben conosciuta ed ha portato all'elaborazione dell'indice HOMA (*Homeostasis Model Assessment*). Matthews e coll.⁸ hanno presentato un modello matematico che permette di quantificare l'entità della presenza di resistenza insulinica calcolando l'indice di resistenza insulinica mediante HOMA (HOMA-IR) e di valutare, quindi, la funzionalità della β -cellula pancreatica. L'HOMA è un modello matematico attraverso il quale i valori della sensibilità insulinica possono essere calcolati se si conoscono le concentrazioni simultanee del glucosio plasmatico e quelle dell'insulina a digiuno; è un test semplice, risulta appropriato per grandi studi epidemiologici e fornisce una stima dell'insulino-resistenza basale, al contrario del *clamp* euglicemico che misura l'insulino-resistenza stimolata. Nei dati di letteratura l'HOMA-IR ha dimostrato una buona correlazione con i dati sperimentali ottenuti con tecniche di misurazione diretta quali il *clamp* euglicemico.

Insulino-resistenza e sindrome metabolica (SM)

La SM, per quanto nosologicamente omogenea, rappresenta non un'unica entità morbosa, ma piuttosto una costellazione (*clustering*) di fattori di rischio altamente correlati i quali, agendo insieme, producono un sostanziale incremento della probabilità di sviluppare una disfunzione cardiocircolatoria.⁹ La definizione iniziale fu quella di "sindrome X", coniata da Gerald Reaven alla fine degli anni '80.

L'insulino-resistenza riveste un ruolo centrale nella genesi della SM; infatti, oltre al ruolo svolto nel metabolismo glucidico, l'insulina contribuisce alle regolazione del metabolismo lipidico e proteico e della pressione arteriosa, interferendo con la funzione piastrinica e con l'equilibrio tra fattori pro-trombotici e modulatori della fibrinolisi endogena. L'ormone regola, inoltre, gli stimoli proliferativi sulle cellule muscolari lisce della parete vascolare e influenza la funzione endoteliale. Tutto ciò spiega il possibile ruolo dell'insulino-resistenza nel determinismo della SM.

Per quanto la genesi della SM rimanga sconosciuta, viene sospettata come sua causa una combinazione di fattori. La condizione di insulino-resistenza è certamente influenzata da fattori genetici. Oltre 50 mutazioni sono state messe in luce da Hone J. e coll.¹⁰ nel gene che codifica per il recettore dell'insulina a livello del cromosoma. Alcune variazioni a livello del gene che codifica per la proteina legante gli acidi grassi, localizzato nel cromosoma 4 sono associate ad insulino-resistenza.¹¹ Studiando 1028 coppie di gemelli maschi,¹² è stata riscontrata una maggiore concordanza di dislipidemia ed ipertensione nei monozigoti rispetto agli eterozigoti. Tra i gemelli monozigoti discordanti, quello con ipertensione e dislipidemia pesava significativamente di più, dimostrando un'interazione tra fattori genetici ed influenze ambientali sul manifestarsi della SM.¹³

Il caratteristico profilo della SM prevede l'accumulo di adiposità viscerale, cui si affiancano la resistenza all'insulina, l'ipertensione arteriosa ed un profilo lipoproteico aterogeno, quest'ultimo in una tipica versione a 3 componenti patogene: ipertrigliceridemia, ridotte HDL e presenza di LDL piccole, dense ed altamente ossidate. Si tende, inoltre, ad includere in questa sindrome altri aspetti, quali uno stato pro-infiammatorio e trombofilico e la microalbuminuria, per quanto tali caratteri non siano stati precisati né quantificati con definiti limiti ponderali.

La SM ha ricevuto una precisa messa a punto ed una chiara collocazione nella strategia di contenimento del rischio cardiovascolare da quando essa è stata inserita nelle Linee Guida aggiornate dell'*Adult Treatment Panel III*, che ne raccomanda il trattamento dietetico, igienico e farmacologico, in aggiunta a quello, già previsto, dei livelli elevati di LDL.¹⁴

Sono state proposte varie definizioni per l'accertamento clinico della SM:

- Per l'*Organizzazione Mondiale della Sanità*¹⁵ viene posta come componente fondamentale l'insulino-resistenza, in tutte le sue manifestazioni (IFG, IGT, diabete mellito tipo 2), con l'associazione di almeno 2 dei seguenti componenti: ipertensione arteriosa, ipertrigliceridemia, ridotte HDL (<35 mg negli uomini, <40 mg nelle donne), BMI >30 kg/m² e/o rapporto vita / fianchi >0,9 cm negli uomini, >0,85 nelle donne, albuminuria >20 µg/min.
- Per il *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III report (ATPIII)*¹⁵ l'accento è posto sull'accumulo di grasso viscerale, con una circonferenza addominale >102 cm negli uomini e >88 cm nelle donne; trigliceridi >150 mg/dl; HDL <50 mg negli uomini e <40 mg nelle donne; ipertensione arteriosa ≥130/85 mm Hg; glicemia a digiuno >110 mg/dl.
- Per l'*American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute*¹⁶ vale una definizione simile a quella dell'*ATPIII*, con alcune varianti: circonferenza vita (valori soglia modificati in base ai gruppi etnici di appartenenza); glicemia (valore normale ridotto a 100 mg/dl).
- Per la *Federazione Internazionale di Diabetologia (IDF)*¹⁷ la soglia della circonferenza addominale, riconosciuta come elemento fondamentale per la diagnosi di SM, viene aggiustata a seconda del gruppo etnico di appartenenza. Devono associarsi altre 2 determinanti.

Insulino-resistenza e disfunzione miocardica

È ormai acquisito che l'insulina è dotata di molteplici effetti fisiologici, attivi non solo sul metabolismo glucidico, ma anche su varie strutture ed organi, quali l'endotelio vascolare, il cuore, il fegato, il tessuto adiposo e il muscolo scheletrico. L'occupazione del recettore insulinico determina l'attivazione a cascata di molteplici segnali intracellulari. Questi si possono sostanzialmente dividere in due versanti: l'uno promuove gli effetti metabolici (*uptake* del glucosio, gluconeogenesi, sintesi del glicogeno) e la produzione di NO endoteliale

tramite la fosfatidilinositolo-3-chinasi (PI3K); l'altro induce effetti mitogeni, di sintesi proteica e di produzione di endotelina attraverso la mitogeno-attivata protein-chinasi (MAPK). Inoltre, l'insulina stimola l'attività del sistema nervoso simpatico a livello centrale.

A livello miocardico, l'insulina provoca un aumento della frequenza cardiaca, della contrattilità e dell'*uptake* del glucosio; provoca anche un reclutamento di capillari, con incremento del flusso.

L'effetto netto sull'omeostasi cardiovascolare e metabolica di tutte queste azioni negli individui sani è di vasodilatazione e di maggior *uptake* di glucosio a livello dei tessuti periferici. In presenza di insulino-resistenza, gli effetti mediati dal PI3K risultano alterati, all'opposto di quelli mediati dal MAPK, che permangono conservati. L'insulino-resistenza, pertanto, può compromettere tutti gli effetti emodinamici positivi, quali la vasodilatazione ed esacerbare quelli negativi (vasocostrizione), inducendo pure disfunzione endoteliale. Negli stati di insulino-resistenza vi è un'alta concentrazione di FFA che, oltre a peggiorare la resistenza all'ormone, producono effetti negativi diretti sulla cellula miocardica, tramite un accumulo di grassi al suo interno, tossici per la fibra cardiaca e una modificazione del metabolismo cellulare, con un maggior utilizzo degli FFA ed una minore efficienza energetica.^{18,19} La già menzionata *up-regulation* del sistema adrenergico contribuisce all'insorgenza della cardiomiopatia tramite apoptosi, necrosi e fibrosi.^{20,21} Elevati livelli di catecolamine spesso presenti in individui insulino-resistenti promuovono la lipolisi incrementando ulteriormente gli FFA circolanti che a loro volta peggiorano l'insulino-resistenza.

Risulta accertato che il diabete mellito può causare disfunzione sisto-diastolica nei soggetti che ne sono affetti. D'altra parte, solo di recente l'insulino-resistenza è diventata una possibile causa di insufficienza cardiaca, tanto da essere considerata nelle ultime linee guida dell'AHA/ACC 2005²² come un vero e proprio fattore di rischio per lo sviluppo di disfunzione miocardica al pari di ben altre note condizioni quali la malattia aterosclerotica e l'ipertensione arteriosa.

La correlazione tra diabete mellito e scompenso cardiaco è nota da più di un secolo, nel 1881 Leyden²³ osservò che lo scompenso cardiaco è una frequente complicanza del diabete e Mayer²⁴ 7 anni dopo ipotizzò che lo scompenso cardiaco nel diabete può essere considerato come una conseguenza dell'anormalità del metabolismo. Diversamente dal caso della

disfunzione miocardica diabetica, da molte decadi oggetto di studio, recentemente si è iniziato a guardare all'insulino-resistenza da un punto di vista simile a quello utilizzato per il diabete. E l'IR è attualmente considerata come uno dei principali fattori di rischio dello sviluppo di insufficienza cardiaca di natura non ischemica. IR è associata ad una forma di cardiomiopatia in cui il miocardio non è in grado di rispondere agli stress attraverso la variazione dei substrati metabolici utilizzati²⁵. Diversi studi animali hanno dimostrato come le alterazioni metaboliche correlate alla presenza di insulino-resistenza siano in grado di determinare cardiomiopatia. Diversi studi epidemiologici suggeriscono molto più che una semplice relazione tra IR e insufficienza cardiaca dimostrando che l'IR precede l'insorgenza di scompenso piuttosto che essere una semplice conseguenza di esso²⁶. In uno studio svedese²⁷, sono stati arruolati 1,187 pazienti senza storia precedente di scompenso cardiaco; è stato visto che l'insulino-resistenza era un forte predittore indipendente di successivo sviluppo di scompenso cardiaco. Sulla base di tali evidenze scientifiche, Witteles et al hanno proposto l'esistenza di una cardiomiopatia da insulino-resistenza²⁵.

Anche la nostra esperienza conferma i dati epidemiologici e sperimentali. In un precedente studio abbiamo esaminato, in confronto con soggetti normali, la risposta miocardica allo stimolo farmacologico (eco-stress con dobutamina) di soggetti con SM di recente riscontro e di pazienti con diabete mellito diagnosticato da non meno di 5 anni. I risultati hanno dimostrato una riduzione della riserva contrattile statisticamente significativa presente nei pazienti con insulino-resistenza, elemento non presente nei pazienti diabetici che hanno presentato una riserva contrattile sovrapponibile a quella del gruppo di controllo di pazienti normali.²⁸

L'evidenza di una marcata riduzione della riserva contrattile nei soggetti con SM da noi esaminati potrebbe essere riconducibile alla citata "ipotesi metabolica".^{29,30,31} Al contempo, l'assenza di una alterazione simile nel gruppo dei pazienti diabetici, potrebbe essere legata al vasto utilizzo di molecole sensibilizzanti verso l'insulina o capaci di aumentarne la disponibilità.

La disfunzione endoteliale

Per disfunzione endoteliale si intende un'alterazione della normale funzione della tunica vascolare intima che comporti la perdita di alcune caratteristiche strutturali e/o funzionali dell'endotelio. Per attivazione endoteliale si intende invece l'acquisizione da parte

dell'endotelio di nuove proprietà, come l'espressione delle molecole adesive durante l'infiammazione.

L'endotelio può essere considerato un vero e proprio organo autocrino e paracrino, capace di secernere, in risposta a una grande varietà di segnali, numerosi mediatori chimici. L'attività paracrina dell'endotelio è rivolta sia verso la parete vasale che verso il lume.

A livello parietale l'endotelio modula il tono vasale e la stessa struttura vasale, rivestendo un ruolo di primissimo piano nel rimodellamento che si osserva nell'ipertensione, nella re-stenosi dopo intervento coronarico percutaneo e nell'aterosclerosi.

A livello luminale, l'endotelio modula la coagulazione e le interazioni con le cellule ematiche, leucociti e piastrine.

Funzione paracrina dell'endotelio. In generale, i mediatori vasodilatatori possiedono anche azione anti-proliferativa, anti-trombotica e anti-aterogena, mentre le sostanze vasocostrittrici hanno azioni opposte. Le principali sostanze prodotte dall'endotelio comprendono: Ossido nitrico (NO), Prostaciclina, EDHF (Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor), Endotelina-1, Trombossano A2, Prostaglandina A2, PAF (Platelet Activating Factor), Anione superossido, ACE (Angiotensin-converting enzyme), Eparan-solfato, Proteina S, Fattore Von Willebrand, Fattore tessutale (TF), Attivatore tessutale del plasminogeno, PAI (Plasminogen activator inhibitor), I-CAM, V-CAM, E e P-selectine, Lipoprotein-lipasi, Citochine; interleukine (IL-8), PDGF (Platelet-derived growth factor), FGFb (Basic fibroblast growth factor), Fattore di crescita insulino-simile (Insulin-like growth factor o IGF), TGF (Transforming growth factor), CSF (Colony-stimulating factor).

La compromissione della attività endocrino-paracrina dell'endotelio è responsabile della disfunzione endoteliale. I fattori che possono causare un danno funzionale dell'endotelio sono numerosi e per la maggior parte si identificano con i fattori di rischio cardiovascolare. Sebbene l'alterazione riguardi tutte le funzioni endoteliali, quella di gran lunga più studiata è la vasodilatazione endotelio-dipendente. Infatti l'endotelio, essendo da un lato bersaglio di segnali meccanici e neuro-ormonali, dall'altro fonte di mediatori vasoattivi, svolge un ruolo fondamentale nel controllo della funzionalità delle arterie e del microcircolo. Fra questi mediatori, NO ha un'importanza preminente nel controllo fisiologico del tono delle arterie e del microcircolo, sia in condizioni basali che dopo stimolazione di vario tipo.

Disfunzione endoteliale e insulino-resistenza

In pazienti ad alto rischio cardiovascolare, la disfunzione endoteliale si può osservare anche prima dell'insorgenza di patologia vascolare clinicamente manifesta. Inoltre ci sono numerose evidenze che indicano che la funzione endoteliale è compromessa in caso di ridotta sensibilità all'insulina endogena. Una ridotta disponibilità di NO è un fattore cruciale per lo sviluppo di disfunzione endoteliale³² e sembra giocare un ruolo importante nello sviluppo di insulino-resistenza.

La eNOS regola il flusso ematico verso i tessuti insulino-sensibili (es. muscoli scheletrici, fegato, tessuto adiposo) e la sua attività è ridotta in soggetti insulino-resistenti. L'inibizione della eNOS riduce il reclutamento microvascolare e l'*uptake* muscolare di glucosio in risposta all'insulina.²⁸ In ratti, l'induzione di ipertensione in seguito alla somministrazione di N-monometil-L-arginina (L-NMMA), un inibitore della eNOS, si associa ad insulino-resistenza.³³

Esiste una crescente evidenza che livelli elevati di inibitore della eNOS, *asymmetric-dimethylarginine* (ADMA), contribuiscano alla disfunzione endoteliale.^{34,35} La eNOS gioca un ruolo cruciale nella regolazione del tono vascolare, nell'attivazione piastrinica, nell'adesione leucocitaria e nello sviluppo di aterosclerosi. Tutti i fattori di rischio noti per aterosclerosi (ipercolesterolemia, DM, ipertensione, fumo cronico) sono associati ad una disfunzione endoteliale secondaria ad una ridotta biodisponibilità vascolare di NO, che media la vasodilatazione flusso-dipendente. Molti studi hanno dimostrato che la riduzione della vasodilatazione endotelio-dipendente si verifica nelle coronarie e nei vasi periferici di conduttanza e di resistenza, rispettivamente.^{36,37} Questo correla positivamente con un incrementato rischio di eventi cardiovascolari ed è predittore indipendente di morbilità vascolare e mortalità.

Una diffusa disfunzione endoteliale gioca, inoltre, un ruolo dinamico nei processi aterotrombotici. In parallelo, la disfunzione endoteliale in letti capillari importanti dal punto di vista metabolico può partecipare allo sviluppo di insulino-resistenza. Individui con aterosclerosi mostrano sia disfunzione vasodilatatoria endoteliale che una ridotta attività insulinica.

La disfunzione endoteliale si manifesta precocemente nell'insulino-resistenza. Gli individui affetti, notoriamente quelli con DM tipo 2 e obesità, hanno una riduzione del flusso

muscolare e un ridotto *uptake* periferico di glucosio dovuto agli elevati livelli di insulina. L'effetto dell'insulina sulla vasodilatazione dei vasi muscolari scheletrici è direttamente proporzionale alla sua capacità di stimolare l'*uptake* di glucosio. In altre parole, gli individui maggiormente insulino-sensibili mostrano il più alto grado di vasodilatazione in risposta alla stessa insulina.³⁸ Per contro, individui insulino-resistenti, così come i soggetti obesi o affetti da NIDDM, mostrano una ridotta risposta vasodilatatoria all'insulina. Pinkey et al³⁹ hanno ipotizzato che la disfunzione endoteliale preceda lo sviluppo sia dell'insulino-resistenza che dell'aterosclerosi. L'insulino-resistenza è un *marker* di disfunzione endoteliale periferica. In arterie di grosso e medio calibro la disfunzione endoteliale gioca un ruolo maggiore nell'aterogenesi ma ha uno scarso impatto metabolico diretto. Per contro, la disfunzione endoteliale nel microcircolo contribuisce allo sviluppo di insulino-resistenza.

La coesistenza di disfunzione endoteliale periferica e centrale può spiegare l'osservata associazione tra aterosclerosi vascolare e insulino-resistenza. L'insulina agisce come vasodilatatore e, negli stati di insulino-resistenza, inclusi l'obesità, il NIDDM e l'ipertensione, è stato ben descritto un ridotto flusso ematico verso la muscolatura scheletrica (indotto dall'insulina). Inoltre gli individui con insulino-resistenza hanno una ridotta capillarizzazione muscolo-scheletrica. Dunque, sia la ridotta superficie capillare che la ridotta funzione endoteliale capillare, insieme con la disfunzione vasodilatatoria insulino-mediata a livello arteriolare, possono contribuire all'insulino-resistenza a causa del rallentato trasporto di insulina a livello interstiziale, cosicché meno insulina può legarsi ai suoi recettori.^{40,41}

Insulino-resistenza e attività fisica

In soggetti con insulino-resistenza numerosi sono i fattori metabolici ed emodinamici che possono contribuire al miglioramento dell'omeostasi glucidica che si osserva dopo esercizio fisico, sia acutamente, sia dopo allenamento protratto. Le risposte adattative all'esercizio fisico comprendono (1) un'azione facilitata dell'insulina sul sistema di trasporto del glucosio nel muscolo scheletrico, (2) una ridotta stimolazione ormonale della produzione epatica di

glucosio, (3) un migliorato flusso sanguigno al muscolo scheletrico e (4) la normalizzazione del profilo dei lipidi ematici.

Il muscolo scheletrico, che rappresenta sino al 40% della massa corporea nell'uomo e in altre specie di mammiferi, è il principale tessuto responsabile della cessione periferica di glucosio in risposta a un carico di glucosio o di insulina o durante un esercizio fisico.⁴² Il trasporto del glucosio all'interno del miocita è regolato acutamente dall'insulina e da fattori insulino-simili attraverso l'attivazione di una serie di proteine intracellulari. Ciò risulta, in ultima analisi, nella traslocazione di un'isoforma proteica di un trasportatore del glucosio, chiamato GLUT-4, alla membrana plasmatica e ai tubuli T dove ha luogo il trasporto del glucosio. Le evidenze disponibili supportano l'idea che l'entità della traslocazione del GLUT-4 è proporzionale alla capacità del muscolo scheletrico di facilitare il trasporto del glucosio.⁴³

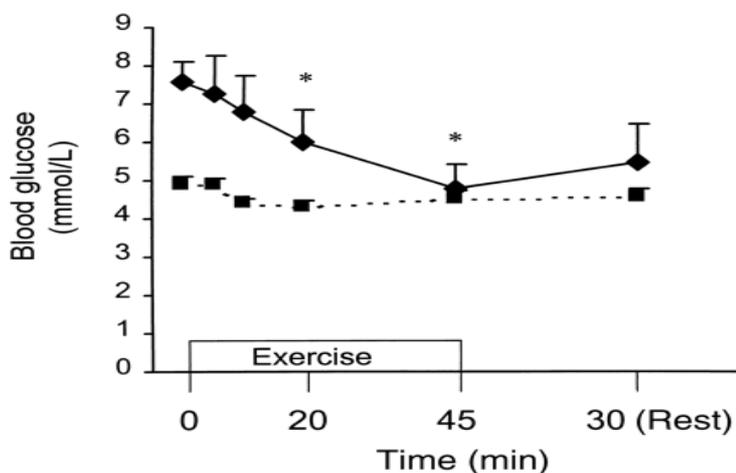
Il trasporto del glucosio all'interno del muscolo scheletrico è stimolato anche da un meccanismo insulino-indipendente che è attivato da (1) contrazioni,⁴⁴ (2) ipossia,⁴⁵ (3) ossido nitrico⁴⁶ e (4) bradichinina.⁴⁷ Tale meccanismo insulino-indipendente accadrebbe a seguito dell'attivazione dell'AMPK, una protein-chinasi attivata dal 5'-adenosin-monofosfato, che si attiva da un decremento della carica energetica della cellula.⁴⁸

L'insulino-resistenza del trasporto del glucosio del muscolo scheletrico costituisce uno dei principali problemi nel normale mantenimento di una condizione di euglicemia. Quest'insulino-resistenza è frequentemente accompagnata da una varietà di anormalità metaboliche e cardiovascolari, come ipertensione, intolleranza glucidica, diabete tipo 2, dislipidemia, aterosclerosi e obesità centrale. L'insulino-resistenza nel diabete tipo 2 non si accompagna generalmente a ridotti livelli di GLUT-4 nel muscolo scheletrico; ciò che invece è anomalo è la normale traslocazione della proteina GLUT-4 verso la membrana plasmatica.⁴⁹

È stato ampiamente dimostrato che l'attività fisica induce aumento del metabolismo glucidico. L'aumentata azione dell'insulina sul trasporto del glucosio nel muscolo scheletrico dopo esercizio fisico si associa a un'accresciuta espressione di proteina GLUT-4 e a risposte adattative di enzimi coinvolti nella fosforilazione e ossidazione del glucosio⁵⁰. Sulla base di queste osservazioni si può affermare che l'esercizio fisico rappresenta una fondamentale strategia di intervento per migliorare lo stato metabolico di soggetti insulino-resistenti.

Il miglioramento dell'azione dell'insulina sul metabolismo glucidico del muscolo scheletrico di soggetti insulino-resistenti riduce la probabilità di evoluzione in diabete conclamato e riduce la mortalità cardio-vascolare. In effetti, i risultati del DPP negli Stati Uniti hanno convincentemente dimostrato che l'introduzione di un programma di modificazione dello stile di vita, che comprenda almeno un 7% di riduzione del peso corporeo e un minimo di 150 minuti di attività fisica alla settimana, dovrebbe ridurre l'incidenza di diabete, nel giro di 3 anni, del 58%.⁴⁶ Questi risultati sono perfettamente analoghi a quelli di uno studio finlandese nel quale un trattamento con dieta dimagrante e attività fisica ha ridotto l'incidenza di diabete tipo 2 in uomini sovrappeso con intolleranza glucidica.⁴⁸

Esercizio acuto e insulino-resistenza. Durante un singolo carico di attività fisica si determina un significativo abbassamento della glicemia in soggetti con diabete tipo 2. L'effetto dell'esercizio acuto sulla glicemia è probabilmente dovuto alla capacità dell'attività contrattile di attivare il trasporto del glucosio nel muscolo scheletrico.



Uno dei meccanismi sottostanti questo effetto ipoglicemizzante è stato identificato in uno studio su soggetti con diabete tipo 2.⁸¹ Immediatamente dopo un singolo carico di attività fisica (45-60 minuti di cyclette al 60-70% del VO_2 max) si è osservato un aumento del 74% del GLUT-4 sulla membrana plasmatica nel muscolo vasto laterale, in assenza di aumento di espressione della stessa proteina GLUT-4. Pertanto, un singolo carico di attività fisica di

intensità moderata può incrementare il trasporto del glucosio attraverso l'induzione della traslocazione sulla membrana plasmatica della proteina GLUT-4.

Esercizio cronico e insulino-resistenza. Il metabolismo glucidico alterato in tutto il corpo (non solo nel muscolo scheletrico) può essere ripristinato dall'attività fisica cronica. Due risposte adattative cruciali che sottostanno all'aumentata attività di trasporto del glucosio dopo esercizio fisico sono un'*up-regulation* dell'espressione della proteina GLUT-4 e un'aumentata traslocazione della stessa proteina GLUT-4 sulla membrana plasmatica.⁵¹

L'attività fisica incrementa la sensibilità all'insulina nel muscolo scheletrico ed ha il vantaggio addizionale di migliorare la prestazione cardiovascolare e respiratoria, evitando inoltre possibili effetti collaterali di una terapia farmacologica a lungo termine⁵². L'allenamento fisico incrementa la sensibilità all'insulina in tutto l'organismo (oltre che nel muscolo scheletrico) sia nei soggetti normali, sia nei figli di genitori diabetici, principalmente attraverso la stimolazione della sintesi di glicogeno muscolare insulino-mediata.

I meccanismi attraverso i quali l'attività fisica contrasta l'insulino-resistenza possono essere spiegati a livello molecolare, come per la metformina, con l'attivazione dell'AMPK. Ciò fu dimostrato per la prima volta da Richter et al.,⁵³ i quali ipotizzarono che l'AMPK stimolata dall'attività fisica agisca inibendo la via metabolica denominata TOR (target of rapamycin), che è responsabile della crescita cellulare e dell'ipertrofia. Un'altra conseguenza dell'allenamento fisico di resistenza è un incremento nella capacità ossidativa attraverso un'incrementata biogenesi mitocondriale, fenomeno osservato per la prima volta da Holloszy nel 1967.⁵⁴ L'enzima AMPK sarebbe il sensore coinvolto nel meccanismo che rileva un deficit nella capacità ossidativa e stimola la biogenesi mitocondriale.

Il meccanismo con il quale l'attivazione dell'AMPK determini l'*up-regulation* del GLUT-4 rimane ancora non ben chiarito, anche se è stato dimostrato che sarebbe coinvolto un incremento di fattori di trascrizione per l'espressione del GLUT-4.⁵⁵

Insulino-resistenza e metformina

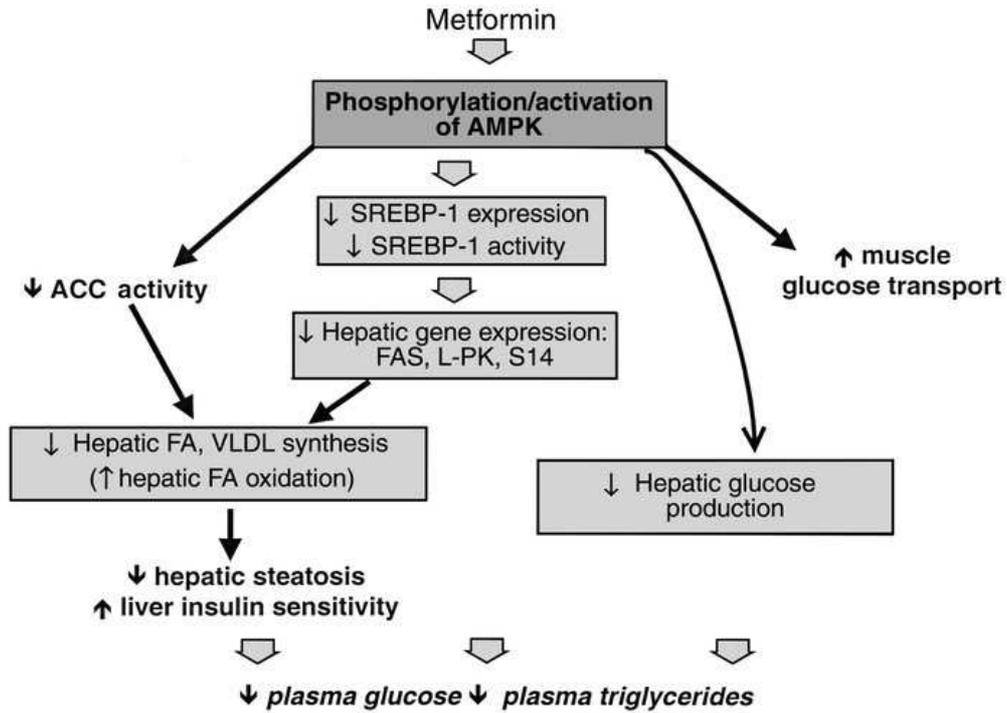
La metformina è largamente usata per la terapia del diabete mellito tipo 2 (DM2): essa migliora l'iperglicemia senza stimolare secrezione di insulina, senza determinare incremento ponderale, e senza causare ipoglicemia. Inoltre ha effetti benefici sui lipidi circolanti connessi con un aumentato rischio cardiovascolare.⁵⁶

Anche se usata come farmaco fin dal 1957, i meccanismi attraverso i quali la metformina riduce i livelli di glucosio e dei lipidi rimangono ancora parzialmente ignoti. Due effetti, una ridotta produzione epatica di glucosio e un'aumentata captazione di glucosio delle cellule muscolo-scheletriche, sono stati identificati come i maggiori responsabili dell'efficacia nell'abbassamento della glicemia.⁵⁷

Un ruolo centrale nel meccanismo d'azione della metformina è svolto dall'AMPK, che funziona come sensore dello stato energetico nel muscolo scheletrico.

In sintesi, un'aumentata fosforilazione e attivazione dell'AMPK da parte della metformina conduce agli effetti sopra menzionati sul metabolismo glucidico e lipidico (vedi figura), attraverso 4 vie:

- 1) Fosforilazione e inattivazione dell'Acetil-CoenzimaA-Carbolissasi (ACC): inibizione della lipogenesi e aumento dell'ossidazione degli acidi grassi.
- 2) Ridotta espressione e ridotta attività del SREBP-1, un importante fattore di trascrizione, stimolato dall'insulina, implicato nella patogenesi dell'insulino-resistenza, della dislipidemia e del DM2
- 3) Riduzione della produzione epatica di glucosio
- 4) Induzione della captazione di glucosio da parte delle cellule muscolari scheletriche, effetto che risulta additivo rispetto all'insulina.⁵⁸



Esistono anche altri effetti metabolici, dimostrati su cuore intatto e su cellule muscolari cardiache isolate, che non implicano necessariamente un'attivazione apprezzabile dell'AMPK.

Ciò che non è stato chiarito in maniera definitiva è quale sia il *primum movens*. Tuttavia, l'ipotesi più accreditata lo attribuisce all'inibizione del *complex I* della catena respiratoria mitocondriale, secondo un meccanismo tempo-dipendente e auto-limitante.⁵⁹

La prova da sforzo cardiopolmonare

La prova da sforzo è un versatile e antico strumento che fornisce informazioni diagnostiche e prognostiche su pazienti con malattie cardiovascolari e polmonari. Essa è una metodica disponibile da più di mezzo secolo e, come molte altre procedure cardiovascolari, si è evoluta come tecnologia e come obiettivi. Quando combinate con la prova da sforzo, metodiche aggiuntive di *imaging* offrono un'ulteriore accuratezza diagnostica, informazioni sulla struttura e funzione cardiaca e informazioni prognostiche aggiuntive. Analogamente, l'aggiunta delle misurazioni della ventilazione e dei gas espirati durante la prova da sforzo fornisce un vasto insieme di informazioni uniche e utili clinicamente, che finora sono state poco comprese e largamente sottoutilizzate dai clinici pratici. Le ragioni di ciò sono diverse e includono la necessità di apparecchiature aggiuntive (apparecchiature di test cardiopolmonare [CPET]), personale esperto nella gestione e nell'interpretazione di questi test, limitata o assente formazione di specialisti cardiologi, limitata formazione da parte di pneumologi specialisti in questa metodica e scarsa comprensione del valore della CPET.

Le apparecchiature attuali di CPET permettono l'analisi dei gas respirati a riposo, durante esercizio e durante recupero e forniscono delle misurazioni respiro-per-respiro del consumo di ossigeno (VO_2), della produzione di anidride carbonica (VCO_2) e della ventilazione (VE). Tali sistemi computerizzati forniscono le elaborazioni di questi dati che diventano in questo modo facili da richiamare e da archiviare. Gli stessi dati possono essere rapidamente integrati con le classiche variabili misurate durante una prova da sforzo, come la frequenza cardiaca, la pressione arteriosa, il carico lavorativo della prova, i dati elettrocardiografici e i sintomi, in modo da fornire una valutazione completa della tolleranza e delle risposte allo sforzo. La CPET può anche essere effettuata unitamente a un test di *imaging*, per una valutazione diagnostica aggiuntiva. Pertanto, la CPET fornisce al clinico una vasta e articolata mole di informazioni che, se correttamente interpretate, contribuiscono in modo determinante alla gestione di complesse malattie cardiovascolari e polmonari.⁶⁰

Fisiologia dello scambio dei gas respirati. La capacità di eseguire un esercizio è strettamente correlata con la capacità del sistema cardiovascolare di fornire O_2 ai muscoli e a quella del sistema polmonare di espellere la CO_2 dal sangue attraverso i polmoni. Quattro sono i processi coinvolti:

1. La ventilazione polmonare, cioè il movimento di aria dentro e fuori i polmoni;
2. La diffusione polmonare, cioè lo scambio di O₂ e CO₂ tra polmoni e sangue;
3. Il trasporto di O₂ e CO₂ nel sangue;
4. Lo scambio dei gas a livello capillare, cioè lo scambio di O₂ e CO₂ tra il sangue capillare e i muscoli.

I primi 2 processi costituiscono la *respirazione esterna* che attiene il movimento dei gas dall'aria-ambiente ai polmoni e quindi al sangue. Il quarto passaggio è definito come la *respirazione interna* perché riguarda lo scambio dei gas tra sangue e tessuti. Questi 2 processi sono collegati tra loro dal sistema circolatorio. La CPET è utile perché, stimolando con l'esercizio i meccanismi responsabili della respirazione esterna e interna, può rivelare la presenza di anomalie non palesi a riposo. Inoltre, i tradizionali test di funzionalità cardiaca e polmonare effettuati a riposo non possono determinare in modo affidabile la capacità di esercizio o i particolari meccanismi che causano un'intolleranza allo sforzo in soggetti con malattia cardiaca o polmonare.

L'aumento della captazione di O₂ da parte dei muscoli coinvolti nell'esercizio è facilitato soprattutto da un aumento della portata cardiaca, sino a 6 volte rispetto al riposo. La portata cardiaca è anche ridistribuita dai tessuti non attivi (splancnici e renali) ai muscoli scheletrici. Contemporaneamente, avviene un aumento di flusso sanguigno ai polmoni, sia per l'aumento della portata cardiaca, sia per la vasodilatazione dei vasi polmonari. Avviene inoltre un'estrazione aumentata di O₂ dal sangue, con il conseguente aumento della differenza artero-venosa di O₂.

Nei soggetti normali, la ventilazione/minuto (VE) aumenta in proporzione all'aumento del carico lavorativo. Durante l'inspirazione soltanto una parte del volume corrente raggiunge gli alveoli, i quali sono la sede dello scambio dei gas. L'aria che rimane nelle vie respiratorie e che non partecipa allo scambio dei gas è nota come volume dello *spazio morto* (VD). Durante lo sforzo, la dilatazione delle vie respiratorie determina l'aumento del VD, ma, poiché anche il volume corrente aumenta, è garantita comunque un'adeguata ventilazione alveolare e un adeguato scambio dei gas. Tutto questo viene definito come *normale accoppiamento ventilazione-perfusione*. L'aumento della VE durante sforzo deve essere accoppiato a un incremento del flusso sanguigno. Uno dei segni più tipici di scompenso cardiaco cronico è una

ridotta risposta della portata cardiaca allo sforzo; ciò può anche condurre a un disaccoppiamento tra ventilazione e perfusione, con la ventilazione che deve aumentare sproporzionatamente ai bisogni metabolici per compensare una perfusione inadeguata.

Parametri della CPET e loro implicazioni fisiologiche

Massima capacità aerobica: VO_2max e VO_2 di picco. Il VO_2 massimale (VO_2max) è un parametro importante dato che è considerata l'unità di misura che definisce i limiti del sistema cardiopolmonare. È definito dall'equazione di Fick come il prodotto della portata cardiaca per la differenza d'ossigeno artero-venosa al picco dell'esercizio:

$$VO_2max = (FC \times GS) \times [C(a-v) O_2],$$

dove FC è la frequenza cardiaca e GS è la gittata sistolica.

La misurazione del VO_2max implica che il limite fisiologico di un soggetto sia stato raggiunto (denominato anche *massima capacità aerobica*). Il vero VO_2max (VO_2max fisiologico) storicamente è stato definito da un *plateau* nel VO_2 tra i 2 carichi finali è richiede che sia raggiunto e mantenuto per un dato tempo uno sforzo massimale. Poiché questa determinazione è soggettiva, può essere difficile da definire, ed è raramente osservata in pazienti con malattie cardiovascolari e polmonari, il termine VO_2 di picco è più comunemente usato clinicamente per esprimere la capacità di esercizio. Per contro, il termine VO_2max è più spesso usato per descrivere la capacità fisica in soggetti sani, nei quali è più probabile il raggiungimento di una risposta fisiologica massimale.⁶¹

Soglia ventilatoria. Poiché molte attività della vita quotidiana non richiedono uno sforzo massimale, un parametro sotto-massimale di capacità fisica largamente utilizzato è la soglia anaerobica o ventilatoria (SA). Il termine SA significa che questo evento fisiologico è valutato mediante il gas ventilatorio espirato, definito dal livello di sforzo al quale VE inizia ad aumentare esponenzialmente rispetto all'incremento del VO_2 . La SA è ritenuta espressione della soglia anaerobica, la quale si basa sul concetto che a un dato carico di lavoro l'apporto di O_2 al muscolo non sia sufficiente. Questo sbilancio incrementa la dipendenza dalla glicolisi anaerobica, con produzione di lattato come prodotto metabolico finale (soglia del lattato).⁶² Un incremento della VE è necessaria per eliminare l'eccesso di CO_2 prodotta durante la conversione di acido lattico a lattato. Anche se i termini *soglia ventilatoria*, *soglia anaerobica*,

e *soglia del lattato* sono usati spesso intercambiabilmente, dovrebbero essere considerati degli eventi correlati ma differenti.

La SA solitamente si trova tra il 45% e il 65% del VO_2 di picco o del VO_{2max} di soggetti sani non allenati, ma può trovarsi a percentuali più alte della capacità di esercizio in soggetti ben allenati. L'allenamento incrementa il VO_2 alla SA di un'entità di grandezza simile a quella per la VO_2 di picco o la VO_{2max} : perciò è un parametro importante da documentare clinicamente.⁶³

Quoziente respiratorio. Raggiungere almeno l'85% della frequenza cardiaca massima (rapportata all'età) è un ben riconosciuto indicatore dell'adeguatezza dello sforzo durante una CPET. Tuttavia la frequenza cardiaca massima ha un'ampia variabilità nella popolazione generale. Il rapporto degli scambi respiratori (RSR), definito come il rapporto tra VCO_2 e VO_2 , ottenuto esclusivamente dall'analisi dei gas ventilatori espirati, elimina il bisogno di valutare la FC nel determinare l'adeguatezza di uno sforzo. Il rapporto tra VCO_2 e VO_2 può essere usato per stimare il quoziente respiratorio (RQ). Al raggiungimento di sforzi di intensità elevata, il tamponamento dell'acido lattico contribuisce alla produzione di CO_2 , e ciò aumenta il numeratore del rapporto a una velocità più alta del denominatore. Questa risposta fisiologica allo sforzo è costante in soggetti sani e in tutti i tipi di pazienti, cosa che rende l'RQ di picco la più accurata e fattibile stima dell'entità dell'impegno nello sforzo. Un RQ di picco > 1.10 è generalmente considerato un indicatore di impegno eccellente durante la CPET, anche se non è un indicazione all'interruzione del test.

Rapporto VE/VCO_2 (ventilazione al minuto/produzione di CO_2). L'efficienza ventilatoria può essere stimata dalla valutazione della salita della VE in funzione del carico lavorativo, del VO_2 o del VCO_2 . L'indice di efficienza ventilatoria più largamente usato è la pendenza del rapporto VE/VCO_2 . La relazione tra VE e VCO_2 durante sforzo è molto stretta, dato che la prima è modulata dalla produzione metabolica e anaerobica dell'altra. A prescindere dalle tecniche di calcolo utilizzate, un rapporto $VE/VCO_2 < 30$ è considerato normale senza aggiustamenti per età e sesso.⁶⁴

Le risposte alla CPET come parte di una valutazione globale

La CPET presenta la caratteristica unica di valutare i gas scambiati durante uno sforzo; tuttavia il test integra anche le tradizionali misurazioni di una prova da sforzo, e ciò contribuisce a fornire una valutazione globale. I criteri elettrocardiografici, emodinamici e i sintomi sono importanti variabili correlate con lo sforzo che completano e approfondiscono i dati degli indici dei gas scambiati.

PREMESSE E RAGIONI DEL NOSTRO STUDIO

È noto come soggetti affetti da diabete mellito di tipo 2, anche in assenza di malattie cardiovascolari, dimostrino una riduzione del consumo massimo di ossigeno ($VO_2\max$) quando confrontati con individui sani. Lau et al.⁶⁵ hanno rilevato in pazienti diabetici e con microalbuminuria un $VO_2\max$ inferiore del 40% rispetto a controlli normoalbuminurici. Inoltre, la pendenza della curva di incremento del VO_2 nel corso di un esercizio progressivo al *treadmill* è risultata attenuata in individui con diabete di tipo 2 rispetto a soggetti sani di controllo. Nel loro insieme, tali dati suggeriscono che la riduzione del $VO_2\max$ in pazienti con diabete mellito di tipo 2 non è determinata esclusivamente da una precoce interruzione dell'esercizio o dal decondizionamento, ma che una riduzione significativa della performance cardiovascolare coesiste con la ridotta tolleranza all'esercizio. Regensteiner⁶⁶ ha dimostrato una riduzione del $VO_2\max$ e della sua velocità di incremento nelle donne sedentarie con diabete mellito di tipo 2 non complicato rispetto a donne sedentarie in sovrappeso e normopeso. Le donne in premenopausa con diabete non complicato hanno una riduzione del consumo di O_2 durante un esercizio massimale e sottomassimale. Soggetti con familiarità per diabete mellito di tipo 2 e insulino-resistenza hanno maggiore obesità viscerale e una riduzione del $VO_2\max$ quando confrontati con soggetti senza familiarità per diabete, nonostante BMI e massa grassa comparabili. Sia l'obesità viscerale che la riduzione della capacità fisica sono associate e possono contribuire all'insulino-resistenza.⁶⁷

Disponiamo di evidenze in base alle quali sia fattori centrali (cardiaci) che periferici appaiono corresponsabili della riduzione della capacità di esercizio fisico nei soggetti affetti da diabete mellito di tipo 2. L'importante relazione tra funzione endoteliale e capacità di esercizio fisico è chiaramente dimostrata, ad esempio, nelle donne in post-menopausa le quali, rispetto alle coetanee in pre-menopausa, rivelano una compromissione della funzione endoteliale ben correlata con il ridimensionamento del picco di VO_2 in corso di test al *treadmill*.

La terapia con metformina può determinare un miglioramento della funzione endoteliale in giovani donne affette da insulino-resistenza causata dalla policistosi ovarica. Inoltre sia l'ADMA che i parametri di insulino-resistenza risultano aumentati nelle donne affette da policistosi ovarica e migliorano in seguito al trattamento con metformina.⁶⁸

Recenti evidenze dimostrano come l'insulino-resistenza giochi un ruolo importante nel determinare la riduzione della *performance* cardiovascolare. Studi epidemiologici e clinici hanno confermato, almeno in parte, gli studi sperimentali identificando un nesso fra la condizione di insulino-resistenza, le alterazioni della funzione endoteliale e quelle morfofunzionali del ventricolo sinistro, con la possibilità di un'evoluzione fino all'insufficienza cardiaca.^{23,69}

La disponibilità di nuove metodiche, quali l'*Endo-Pat* e il *Doppler Tissue Imaging* (DTI), in grado di quantificare il grado di funzionalità/disfunzionalità dell'endotelio e del miocardio regionale, hanno rapidamente ampliato la possibilità di verifica diretta delle conseguenze vascolari e cardiache del dismetabolismo glucidico, nella sua fase preclinica ed in quella conclamata di malattia diabetica.

In un precedente studio del nostro gruppo avevamo dimostrato una riduzione della riserva contrattile miocardica nei pazienti portatori di insulino-resistenza, nei confronti dei pazienti diabetici che presentavano, viceversa, una riserva contrattile sovrapponibile a quella del gruppo di pazienti normali di controllo.²⁸

Il primo scopo del nostro studio è stato quello di descrivere le caratteristiche basali cardiometaboliche di un gruppo di pazienti affetti da insulino-resistenza al fine di evidenziare la presenza di parametri alterati, espressione di un danno preclinico già evidenziati in studi precedenti in pazienti diabetici. Attraverso l'utilizzo di metodiche ecocardiografiche e la misurazione della riserva endoteliale, si è voluto distinguere il contributo dato a tale disfunzione da fattori centrali (disfunzione cardiaca sub-clinica) e periferici (ridotta riserva endoteliale).

Recentemente Voulgari et al hanno dimostrato che individui affetti da IR, normopeso, hanno un elevato rischio di sviluppare scompenso cardiaco, durante un follow-up di 6 mesi, se confrontati con una popolazione di soggetti obesi ma metabolicamente sani⁷⁰. In considerazione di tali evidenze, abbiamo diviso la nostra popolazione in due gruppi in base al valore di BMI e confrontato le loro caratteristiche cardiometaboliche.

A tali fini, nel nostro studio è stato previsto l'impiego del test cardiopolmonare con la misurazione dei principali parametri di *performance* cardiovascolare e della misurazione della riserva endoteliale tramite metodo pletismografico Endo-Pat. Lo studio ha ricompreso una

valutazione ecocardiografica convenzionale e una valutazione della funzione sistolica e diastolica ventricolare sinistra con TDI, *strain* (ϵ) e *strain/rate imaging* (SR).

Il Diabetes Prevention Program ha sottolineato l'indipendente capacità delle modificazioni dello stile di vita (che include l'esercizio fisico regolare) e del trattamento con metformina, nella prevenzione del diabete mellito di tipo 2⁷¹. La metformina, però, ha determinato una piccola ma significativa riduzione del consumo di ossigeno durante il test cardiopolmonare, in una popolazione di soggetti sani⁷². Rimane sconosciuto se tale effetto si produca anche in una popolazione di insulino-resistenti. Esistono in letteratura pochi dati che descrivono come l'esercizio fisico e la metformina interagiscono quando utilizzati in combinazione in una popolazione di insulino-resistenti. Recentemente è stato dimostrato come la sensibilità all'insulina viene incrementata sia dell'esercizio fisico che dalla terapia con metformina ma che l'effetto dei due trattamenti non è né sinergico né additivo⁷³, come se la metformina possa attenuare il ben conosciuto effetto dell'esercizio fisico sulla sensibilità all'insulina⁷⁴.

Per tale motivo l'ultimo obiettivo del nostro studio è stato quello di osservare gli effetti cardiometabolici della terapia con metformina e dell'esercizio fisico programmato, da soli e in combinazione in una popolazione di insulino-resistenti.

A tali fini, nel nostro protocollo è stato previsto l'impiego del test cardiopolmonare e di metodiche ecocardiografiche avanzate per la misurazione dei principali parametri di *performance* cardiovascolare. Tali valutazioni sono state eseguite al momento dell'arruolamento e dopo 3 mesi di terapia con metformina, di attività fisica programmata e dell'associazione di entrambi i trattamenti. All'arruolamento e alla fine della terapia sono anche stato somministrati dei questionari per la valutazione dell'impatto sulla qualità di vita relativa alla salute dei diversi approcci terapeutici.

MATERIALI E METODO

Popolazione studiata. Sono stati arruolati 102 individui provenienti dal laboratorio di diabetologia del nostro ospedale, d'ambo i sessi (57 donne e 45 uomini) normoglicemici, con alterata tolleranza glucidica (IGT), con iperglicemia a digiuno (IFG) o diabetici di nuova insorgenza con diagnosi recente di insulino-resistenza calcolata secondo l'HOMA IR (Insulina ($\mu\text{U/mL}$) x Glicemia (mmol/L)]/22).

Sono stati adottati i seguenti criteri di inclusione allo studio: (1) età compresa fra 20 e 75 anni (età media 44 ± 13); (2) nessun trattamento con farmaci ipoglicemizzanti orali; (3) frazione di eiezione $>55\%$ (metodo di Simpson in eco 2D) e assenza di dissinergie ecocardiografiche a riposo; (4) accertata, normale funzionalità epatica e renale; (5) disponibilità del paziente a seguire il protocollo di studio. Sono stati esclusi gli individui: (1) affetti da cardiopatia ischemica o d'altra origine in atto o pregressa; (2) portatori di *pace-maker* cardiaco; (3) affetti da fibrillazione atriale o altre aritmie maggiori; (4) affetti da patologie o trattamenti farmacologici in atto che a giudizio dei ricercatori potessero compromettere i risultati dello studio.

Tutti i pazienti, all'epoca dell'arruolamento, hanno eseguito esami ematochimici completi, nonché il test da carico orale di glucosio (glicemia basale e a 120' dopo un carico di 75 grammi di glucosio) e il dosaggio dell'insulinemia. Tutti sono stati sottoposti all'epoca dell'arruolamento a valutazione cardiovascolare completa: anamnesi e visita, ECG, ecocardiogramma mono-, bidimensionale e color Doppler, TDI basale e valutazione dei parametri di Strain (ϵ) e Strain Rate (SR) con metodica *speckle tracking imaging*, test cardiopolmonare, misurazione della riserva endoteliale e valutazione della qualità di vita.

Sono state valutate le caratteristiche basali della popolazione e successivamente la popolazione è stata suddivisa in due gruppi in base al valore di BMI (obesi e non obesi) per confrontarne le caratteristiche.

A seguito dell'indagine basale, un gruppo di pazienti è rinvio al nostro centro di diabetologia dove è stato iniziato un trattamento con metformina e dopo tre mesi abbiamo ripetuto il test cardiopolmonare, lo studio ecocardiografico e la valutazione della riserva endoteliale. i pazienti sono stati sottoposti a trattamento con metformina per 3 mesi.

Un gruppo di 50 pazienti è stato invece randomizzato a:

- GRUPPO M: trattamento di 12 settimane con metformina;
- GRUPPO Ex: 12 settimane di esercizio fisico supervisionato;
- GRUPPO MEx: 12 settimane di associazione tra terapia con Metformina ed esercizio fisico supervisionato.

Dopo 12 settimane in tutti i pazienti sono stati ripetuti: test cardipolmonare, esame ecocardiografico basale, TDI e *speckle tracking imaging*, valutazione dell'insulinemia e dell'insulino-resistenza, somministrazione dei questionari per la valutazione della qualità di vita.

Ecocardiografia standard. È stata eseguita una valutazione ecocardiografica completa mono-, bidimensionale e color-Doppler, utilizzando un eco cardiografo Toshiba Artida equipaggiato con una sonda di 2.5-MHz.

Sono stati misurati i volumi e gli spessori ventricolari ed è stata calcolata la frazione d'eiezione utilizzando il metodo di Simpson biplano dalla proiezione apicale quattro camere e due camere. È stato considerato anormale un valore $\leq 50\%$. È stata valutata la funzione diastolica⁷⁵ registrando le velocità con il Doppler pulsato nella proiezione quattro camere apicale; il profilo di flusso mitralico è stato misurato posizionando il volume campione tra le punte dei lembi mitralici per misurare la velocità di picco in protodiastole (onda E), la velocità di picco della contrazione atriale (onda A) e il tempo di decelerazione dell'onda E. L'esame è stato eseguito tenendo presente la traccia elettrocardiografica.

Doppler tissutale. Il Doppler tissutale (DTI) è una modalità ecocardiografica che applica il principio Doppler (sia con onda pulsata che in modalità a codice di colori) per registrare le velocità tissutali. La frequenza del segnale di ritorno dell'analisi color-Doppler del cuore permette di identificare due bande principali: quella proveniente dal movimento dei globuli rossi ad alta frequenza e di bassa ampiezza (*flusso*, con velocità intorno ai 100 cm/s) e quella dovuta alle fibre miocardiche, di bassa frequenza ed alta ampiezza (*parete*, con velocità intorno ai 10 cm/s ed ampiezza intorno a 40 dB). Tradizionalmente questa seconda componente è stata considerata "rumore" ed eliminata mediante un filtro passa-alto. Al

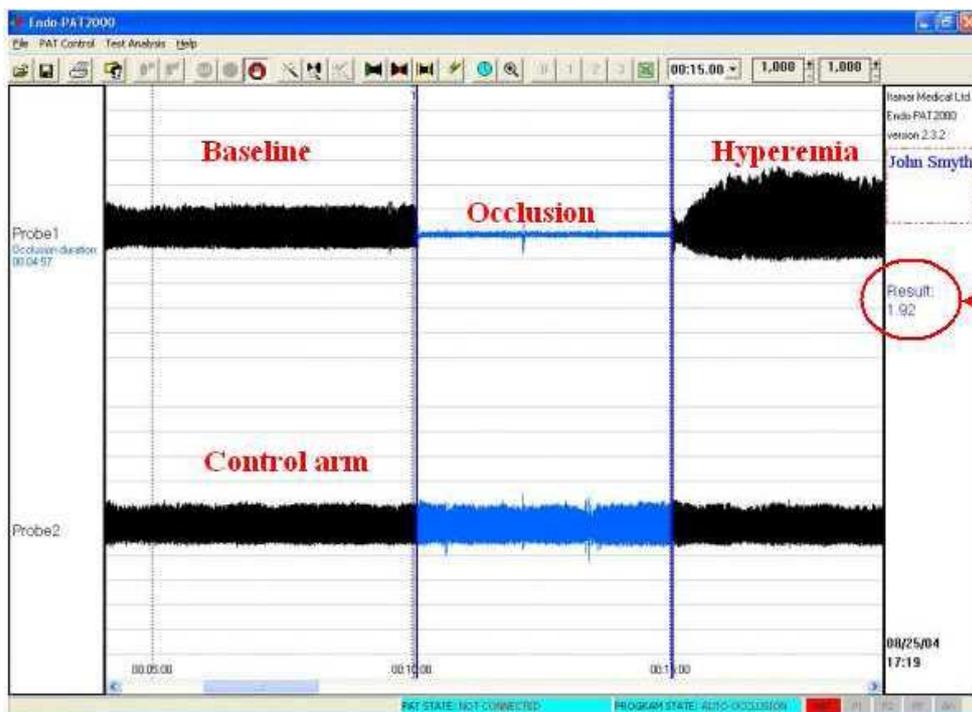
contrario, poiché il contenuto informativo del DTI è presente nelle basse frequenze, per la sua visualizzazione è necessario utilizzare filtri attivi nella direzione di frequenza opposta. Nella suddetta modalità, l'utilizzazione del Doppler pulsato permette di studiare la parete miocardica posizionando il volume campione all'interno dello spessore. Si ottiene così una curva spettrale su cui è possibile misurare le velocità di picco di contrazione e di rilasciamento miocardico.

In base a questa tecnica, abbiamo valutato la funzione longitudinale del ventricolo sinistro analizzando le velocità di spostamento dell'*anulus* mitralico utilizzando il DTI e registrando le velocità con il Doppler pulsato. Il profilo di velocità miocardica è stato misurato posizionando il volume campione nella porzione basale del setto interventricolare. Sono stati misurati la velocità di picco sistolico (onda S), la velocità di picco in protodiastole (onda E), la velocità di picco della contrazione atriale (onda A).

Speckle tracking imaging. Con l'analisi del movimento degli *speckles* inoltre è stato possibile valutare ulteriori parametri di funzione cardiaca come lo *Strain* (ϵ) e *Strain Rate* (SR) globali longitudinali. In particolare lo ϵ è la quantità totale di deformazione miocardica, mentre lo SR è la velocità con cui la deformazione miocardica regionale avviene. Infatti, è stata recentemente sviluppata questa nuova metodica che consente di estrapolare le informazioni di ϵ e SR a partire dalle immagini ottenute in *B-mode* in scala di grigi. Questo è reso possibile in seguito al miglioramento ottenuto nella risoluzione delle immagini 2-D con l'utilizzo della seconda armonica e l'incremento del *frame rate*. La tecnica (*speckle tracking*) si basa sul riconoscimento di gruppi di pixel all'interno della parete miocardica con specifiche caratteristiche acustiche che appunto per le loro caratteristiche di riflettività vengono seguiti fotogramma per fotogramma durante il ciclo cardiaco. Dallo spostamento così calcolato è possibile estrarre sia le informazioni di velocità sia di ϵ e SR.

Endo-Pat2000 per lo studio della funzione endoteliale. Tradizionalmente la funzione endoteliale viene valutata a livello del circolo coronarico o di quello brachiale, utilizzando l'infusione intra-arteriosa di agonisti ed antagonisti endoteliali (es. L-NMMA) a dosi che non determinano effetti sistemici, oppure misurando la vasodilatazione flusso-indotta. Lo studio viene rivolto sia verso i vasi di calibro maggiore che verso i vasi di resistenza. Nel primo caso,

vengono rilevate le variazioni di diametro delle arterie mediante angiografia quantitativa o, qualora si tratti di vasi periferici, mediante ecografia. Nel caso del microcircolo, vengono registrate le variazioni di flusso, misurato con tecnica Doppler o con pletismografia venosa a *strain-gauge* o con tomografia a fotoni. Nel nostro studio abbiamo valutato la funzione endoteliale a livello dell'estremità distale degli arti superiori utilizzando l'ENDO-PAT 2000, un apparecchio per lo studio non invasivo della riserva endoteliale che viene attualmente utilizzato in numerosi istituti di ricerca e negli studi di farmacologia clinica in oltre 40 paesi, ed è stato validato da circa 100 articoli in celebri riviste scientifiche ed *abstracts*, diventando la metodologia standard per lo studio della funzione endoteliale⁷⁶. L'ENDO-PAT 2000 si caratterizza per la semplicità d'uso, per non essere un metodo "operatore-dipendente" dato che i risultati del test possono essere calcolati immediatamente in modo automatico (Figura 1). Esso fornisce un reale e riproducibile indice di della funzione endoteliale in soli 25 minuti. Esso si basa sulla metodica non-invasiva PAT (*Peripheral Arterial Tonometry*), che misura i cambiamenti endotelio-mediati del tono vasale a livello delle dita delle mani attraverso dei bio-sensori⁷⁷. Le modificazioni del tono vasale sono prodotte da un'occlusione dell'arteria brachiale della durata di 5 minuti (standard), che provoca una risposta iperemica. Le misurazioni rilevate sul braccio controlaterale sono utilizzate come controllo. Il risultato, automaticamente calcolato, fornisce un indice della funzione endoteliale.



Test cardiopolmonare. Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad un test cardiopolmonare al cicloergometro. Prima di ogni test sono state effettuate le calibrazioni del flussimetro e dei sensori dell'ossigeno e dell'anidride carbonica. I pazienti venivano prima valutati per un minuto basale e successivamente durante tre minuti di riscaldamento con un carico di 25 W. Il test è stato condotto con incremento a rampa del carico lavorativo da 10 a 20 Watt al minuto in modo da ottenere un esercizio di circa 10 minuti per ogni paziente. È stata richiesta una pedalata costante di circa 60-65 giri al minuto. Durante il test è stata effettuato un monitoraggio costante dell'elettrocardiogramma a 12 derivazioni e la pressione arteriosa misurata ogni due minuti. I parametri respiratori sono stati raccolti in un database elettronico ed elaborati utilizzando il software "Vmax C; Sensormedics, Yorba Linda, CA". Il consumo massimo di ossigeno ($VO_2\text{max}$) o di picco è stato calcolato dalla media degli ultimi 20 secondi dell'esercizio. In tutti i pazienti è stato eseguito un test massimale interrotto per esaurimento fisico. $VO_2\text{max}$ ed il consumo di ossigeno alla soglia anaerobica sono stati espressi in valore assoluto, normalizzati per il peso e in percentuale rispetto ai valori predetti in base alla formula di Wasserman et al..⁷⁸ La soglia anaerobica è stata calcolata utilizzando il metodo *V-Slope* e confrontata con i valori ottenuti dai grafici $VE/VO_2 - VE/VCO_2$ (rapporto tra

ventilazione e consumo di ossigeno e tra ventilazione e produzione di anidride carbonica) e $P_{et}O_2 - P_{et}CO_2$ (concentrazione di O_2 e CO_2 a fine espirazione) da due operatori esperti diversi.

Al picco dell'esercizio sono stati calcolati il polso di ossigeno (consumo di ossigeno normalizzato per la frequenza cardiaca) e il quoziente respiratorio (rapporto tra CO_2 e O_2). Infine sono stati calcolati le pendenze delle curve $VO_2/Work$ e VE/VCO_2 , quest'ultima escludendo la porzione finale non lineare della curva.

Attività fisica. L'attività è stata svolta nella palestra del Policlinico Universitario del Reparto di Cardiologia, dotata di 4 macchinari *cardiofitness*, cardiofrequenzimetri con trasmettitore a fascia toracica e ricevitore di frequenza su polso, cicloergometri Technogym e Atala, tappetini per effettuare lavoro a terra (esercizi per i muscoli addominali e *stretching*), nonché la fase di rilassamento e di ginnastica respiratoria. La frequenza settimanale è stata di 3 volte (giorni dispari), con una durata totale che è andata incrementandosi da 45 minuti nelle prime settimane a 90 minuti al termine delle 12 settimane di allenamento. Il programma si è sviluppato con prudenza ed è proseguito gradualmente dopo la valutazione iniziale del soggetto. Ogni seduta prevedeva una prima fase di riscaldamento cui seguiva la fase centrale di lavoro aerobico e una fase finale di defaticamento, seguita dallo *stretching* (allungamento muscolare) sui grandi gruppi muscolari.

Il protocollo di lavoro è stato suddiviso in 2 fasi, applicate in diversi momenti all'interno del protocollo stesso. Esse si articolano in maniera tale da cominciare con delle attività che determinino un condizionamento e un adattamento muscolare del soggetto (fase 1) (specie chi è da lungo tempo sedentario) sino ad arrivare alle attività aerobiche e di *cardiofitness* (fase 2). Con l'attività cardiovascolare-aerobica comincia la fase centrale del protocollo di lavoro. È caratterizzata da un lavoro continuo dei grandi gruppi muscolari per almeno 30 minuti a ritmo medio-sostenuto (equivalente al 60-75% della frequenza cardiaca massimale data dalla prova da sforzo) prevalentemente sotto soglia aerobica. Si è svolta con l'ausilio degli attrezzi *cardio-fitness* metabolico, dotate di cardiofrequenzimetro, poiché è importante monitorare in maniera costante la frequenza cardiaca del soggetto. Da sottolineare la raccomandazione di non far passare più di 48 ore tra un allenamento e quello successivo.

Valutazione della qualità della vita (Short-form 36). Le misure di qualità di vita relativa alla salute vengono sempre più utilizzate sia nella pratica clinica sia in ambito di ricerca. Abbiamo

utilizzato lo *Short-Form-36* (SF-36), un questionario sullo stato di salute del paziente che è caratterizzato dalla brevità (mediamente il soggetto impiega non più di 10 minuti per la sua compilazione) e dalla precisione (lo strumento è validato e riproducibile). È stato sviluppato a partire dagli anni '80 negli Stati Uniti d'America come questionario generico, multi-dimensionale, articolato attraverso 36 domande che permettono di assemblare 8 differenti scale. Le 36 domande si riferiscono concettualmente a 8 domini di salute: attività fisica (AF, 10 domande), limitazioni di ruolo dovute alla salute fisica (RP, 4 domande) e allo stato emotivo (RE, 3 domande), dolore fisico (BP, 2 domande), percezione dello stato di salute generale (GH, 5 domande), vitalità (VT, 4 domande), attività sociali (SF, 2 domande), salute mentale (MH, 5 domande) e una singola domanda sul cambiamento nello stato di salute. Il questionario SF-36 può essere auto-compilato oppure essere oggetto di un'intervista sia telefonica sia faccia a faccia. Tutte le domande, tranne una, si riferiscono a un periodo di 4 settimane precedenti la compilazione del questionario. La validità delle 8 scale dell'SF-36 è stata largamente studiata in gruppi noti di pazienti⁷⁹. Gli studi di validazione hanno inoltre dimostrato che l'SF-36 ha capacità discriminanti nei confronti di popolazioni con problemi psichiatrici o problemi fisici e di discriminare tra gruppi di popolazioni con condizioni mediche severe da gruppi di popolazioni moderatamente malate o sane.

Analisi statistica. I risultati dello studio sono riportati come medie e deviazione standard. Le differenze tra i dati ottenuti in condizioni basali e dopo trattamento sono state valutate utilizzando il test di Student a due code per dati appaiati (o test di Wilcoxon per ranghi se necessario). Il test del X^2 è stato utilizzato per valutare le differenze tra le due popolazioni. L'indice di correlazione di Pearson è stato utilizzato per valutare le correlazioni tra serie di dati. Un valore di $p < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

RISULTATI

POPOLAZIONE STUDIATA

Caratteristiche della popolazione studiata.

Tutti i pazienti hanno rivelato insulino-resistenza secondo la formula: $HOMA-IR = [Insulina(\mu U/mL) \times Glicemia (mmol/L)]/22,5$. La maggior gran parte è risultata in sovrappeso o francamente obesa (BMI 30 ± 5 ; Peso $81,5 \pm 17$) (Tab. 1)

TAB 1. Caratteristiche antropometriche e metabolismo glucidico

Età (anni \pm DS)	43,97 \pm 13	Glicemia (mg/dl)	110,74 \pm 13
Altezza (cm \pm DS)	163,47 \pm 8	Insulinemia (μ U/ml)	22,45 \pm 15,9
Peso (Kg \pm DS)	81,48 \pm 14	Homa	6,14 \pm 4,5
BMI (Kg/m ² \pm DS)	30,49 \pm 4,3	Dismetabolismo glucidico	
Col Tot (mg/dl \pm DS)	214 \pm 16	NG (%)	18%
HDL (mg/dl \pm DS)	55 \pm 16	IFG (%)	72%
LDL (mg/dl \pm SD)	127 \pm 20	IGT (%)	27%
Trig. (mg/dl \pm DS)	149 \pm 60	IGT+IFG (%)	29%
Ipertensione (%)	25 %	Diabete (%)	9%

L'insulino-resistenza della popolazione selezionata si associava a varie alterazioni del metabolismo glucidico, il 18% dei pazienti erano, invece, normoglicemici.

Test cardiometabolico. I pazienti hanno mostrato un VO₂ di picco medio ridotto rispetto ai valori teorici di una popolazione sana di uguali caratteristiche fisiche ($61,66 \% \pm 13$). Ugualmente ridotto, anche se in maniera meno evidente, è risultato il carico di lavoro ($80,88 \pm 16\%$ del valore predetto). Soglia anaerobica, polso d'ossigeno, VO₂/WORK e VE/VCO₂ sono risultati ai limiti della norma. Si sono registrati elevati valori medi di riserva respiratoria e quoziente respiratorio (Tab. 2)

TAB 2. Parametri CPET

VO2 picco (ml/kg/min) ± DS	20,02 ± 4,68
% ± DS	61,66 ± 13
VO2 (l/min) ± DS	1,62 ± 0,46
% ± DS	72,32 ± 13
WORK (Watt) ± DS	113,05 ± 35
% ± DS	80,88 ± 16
AT (l/min) ± DS	1,04 ± 0,26
AT% VO2 peak ± DS	47,58 ± 11
HR % ± DS	88,29 ± 11,56
O2 PULSE ± DS	10,96 ± 3,35
BR% ± DS	49,22 ± 15,15
RQ peak ± DS	1,13 ± 0,09
VO2/WORK ± DS	9,41 ± 1,39
VE/VCO2 ± DS	23,64 ± 3,88

Studio ecocardiografico. In tutti i pazienti esaminati sono stati riscontrati normali dimensioni delle camere cardiache e normale frazione di eiezione (Tab. 3), così come rientravano nei limiti della normalità i valori della massa ventricolare sinistra⁸⁰. Gli indici di funzione diastolica misurati con il Doppler pulsato e il TDI evidenziano una lieve iniziale disfunzione diastolica se paragonati con i valori normali⁸¹. Anche finì parametri di funzione sistolica come ϵ e SR sono risultati in linea con i valori di riferimento di popolazioni sane⁸².

TAB 3. Parametri ecocardiografici

DTD (mm) ± DS	47,86 ± 4,56
VTD (ml) ± DS	80,62 ± 20,20
MASSA (g) ± DS	159,44 ± 37,14
FE (%) ± DS	66,43 ± 5,97
AAS (cm²) ± DS	18,63 ± 3,09
DcT (msec) ± DS	0,193 ± 0,04
IVRT(msec) ± DS	110 ± 66,2
E/E' ± DS	9,81 ± 3,56
Onda S (cm/sec) ± DS	7,11 ± 1,17
ϵ (cm/sec) ± DS	21,70 ± 10,97
SR (sec⁻¹) ± DS	1,47 ± 0,75

La suddivisione della nostra popolazione in due gruppi in base ai valori di BMI (55 obesi e 47 non obesi) non ha messo in evidenza sostanziali differenze tra i due gruppi (Tab.4). In particolare non sono emerse differenze significative in termini di HOMA index e di VO₂ di picco, Work e polso d'ossigeno; la soglia anaerobica risulta significativamente più alta nei pazienti non obesi. I valori di VO₂ di picco risultavano significativamente più elevati nei pazienti non obesi quando indicizzati per il peso corporeo. Anche per ciò che riguarda i parametri ecocardiografici non sono emerse differenze significative tra i due gruppi.

TAB 4. Parametri metabolici, antropometrici, CPET ed ecografici in pazienti obesi e non obesi.

	OBESI	NON OBESI	P
Età (anni) ± DS	43,68 ± 15,15	44,29 ± 12,92	0,88
Glicemia (mg/dl) ± DS	108,91 ± 13,48	113,38 ± 13,79	0,32
Insulinemia (μU/ml) ± DS	21,65 ± 12,67	23,62 ± 20,17	0,71
Homa ± DS	5,68 ± 3,13	6,82 ± 6,02	0,44
BMI (Kg/m ²) ± DS	33,72 ± 2,76	26,78 ± 2,99	-
VO ₂ (ml/kg/min) ± DS	18,56 ± 4,33	21,67 ± 4,59	0,02
% ± DS	57,37 ± 12,72	66,50 ± 12,24	0,01
VO ₂ (l/min) ± DS	1,70 ± 0,47	1,54 ± 0,46	0,23
% ± DS	75,22 ± 14,65	69,13 ± 11,35	0,11
VCO ₂ (l/min) ± DS	1,93 ± 0,54	1,75 ± 0,50	0,21
WORK (Watt) ± DS	116,37 ± 34,22	109,33 ± 36,51	0,48
AT % VO ₂ peak ± DS	51,04 ± 12,08	43,71 ± 8,61	0,02
O ₂ PULSE ± DS	11,52 ± 2,92	10,33 ± 3,75	0,21
RE ± DS	1,85 ± 0,53	2,22 ± 0,77	0,09
FE % ± DS	65,61 ± 4,44	67,44 ± 7,46	0,34
E/E' ± DS	10,15 ± 4,57	9,48 ± 2,24	0,56
S (cm/sec) ± DS	6,94 ± 0,97	7,33 ± 1,37	0,27
ε (cm/sec) ± DS	0,25 ± 0,14	0,18 ± 0,04	0,10
SR (sec ⁻¹) ± DS	1,67 ± 0,91	1,31 ± 0,52	0,24

EFFETTO DELLA TERAPIA CON METFORMINA

Dei 25 soggetti arruolati, 20 pazienti con insulino-resistenza hanno portato a termine la terapia della durata di 12 settimane con metformina. Cinque pazienti sono state esclusi, una per gravidanza, in relazione ai possibili e non ancora ben conosciuti effetti teratogeni del farmaco; 2 per diarrea severa e 2 per interruzione volontaria.

La popolazione esaminata mostrava un valore basale di VO₂ di picco ridotto (21.02 ± 4.97 ml/Kg/min; 67%) rispetto ai valori teorici di una popolazione sana.

12 settimane di trattamento con metformina hanno prodotto una significativa riduzione di peso e BMI (78 ± 16 vs 81.5 ± 17 , $P < 0.05$ and 29 ± 5 vs 30 ± 5 , $p < 0.05$, rispettivamente).

Ecocardiografia convenzionale e TDI. Al controllo ecocardiografico al follow-up dei 3 mesi non sono state osservate, rispetto ai valori basali, modificazioni dei parametri tradizionali di funzione sistolica e diastolica del ventricolo sinistro e della funzione diastolica valutata con il Doppler Tissutale (Tab 5). Al contrario, abbiamo messo in evidenza un significativo incremento della funzione longitudinale ventricolare sinistra evidenziata da un incremento significativo dell'onda S'. Analogamente anche i sensibili indici di funzione miocardica sistolica derivati dall'analisi dello speckle tracking imaging come lo strain e lo strain rate sono risultati significativamente migliorati dopo la terapia con metformina.

Table 5. Parametri ecocardiografici convenzionali e TDI prima e dopo trattamento.

	Basale	Post Met	P
Ecografia Tradizionale			
LVEF	65.7% ±4.5 %	67.2% ± 5.8%	Ns
EDV	77.5 ± 18.8	68.9 ± 13.2	Ns
ESV	28.4 ± 9.5	22.9 ± 6.4	Ns
DecT	0.226 ± 0.04	0.196 ± 0.02	Ns
E/A	1.19 ± 0.4	1.19 ± 0.4	Ns
TDI			
Em	10.5 ± 2.5	10 ± 1.9	Ns
Em/Am	1.23 ± 0.38	1.21 ± 0.41	Ns
E/Em	8.88 ± 2.4	8.73 ± 2.8	Ns
S'	6,9± 9	7,88 ± 7,8	P=0,01
ε	33±12	42±15	p=0,004
SR	2,32±0,39	2,65±0,65	p=0,04

Abbreviazioni. LVEF: Left Ventricular Ejection Fraction; EDV : end diastolic volume ; ESV end systolic volume ; DecT: Deceleration time; E/A: early and late diastolic peak velocity ratio; Em: TD early diastolic peak velocity; Em/Am: TD early and late diastolic peak velocity ratio; E/Em: early diastolic peak flow velocity and TD velocity ratio

I valori medi della RE venivano significativamente incrementati dalla terapia con Metformina (2.14±0.29 vs 1.93±0.44, p<0.05).

La terapia insulino-sensibilizzante ha determinato una riduzione significativa del picco di VO₂ medio (1.48±0.37 l/min vs 1.60±0.44 l/min, p=0.03; Table 6). Inoltre si è osservata una modesta riduzione del picco del del polso di ossigeno (p<0.05) e un significativo incremento della PetO₂ al picco dell'esercizio, se paragonati con i valori pre-trattamento (p<0.01; Table 3). Si sono osservate anche delle riduzioni seppur non significative in termini di workload, slope del VO₂/Work e della soglia anaerobica.

Table 6. Parametri CPET basali e dopo trattamento

	Basali	Post Met	P
VO ₂ max	1.67 ± 0.39	1.55 ± 0.36	0.02
% VO ₂ max	75.00 ± 7.15	69.91 ± 7.72	0.03
Work	113.50 ± 35.32	109.70 ± 31.38	0.52
% Work	81.00 ± 15.03	78.40 ± 8.44	0.55
AT	1.13 ± 0.25	1.02 ± 0.22	0.18
AT% VO ₂ peak	51.10 ± 8.17	47.11 ± 8.64	0.38
VO ₂ Pulse	10.93 ± 3.17	10.63 ± 3.26	0.02
VE max	55.02 ± 12.84	54.84 ± 13.14	0.94
Pet O ₂	108.29 ± 5.21	112.06 ± 4.20	0.001
RQ peak	1.11 ± 0.11	1.19 ± 0.07	0.20
VO ₂ /Work	9.46 ± 1.11	9.42 ± 0.40	0.61
VE/VO ₂	22.73 ± 2.72	23.71 ± 4.16	0.26
VE/VCO ₂	23.6 ± 2.96	24.38 ± 3.41	0.26

Abbreviations. VO₂max: Maximun oxygen uptake; % VO₂max; Maximun oxygen uptake in percentage comparade to the normal values; Work: Maximun work; % Work: Maximun work in percentage comparade to the normal values; AT:Anaerobic threshold; AT% VO₂ peak: Anaerobic threshold in percentage comparade to the VO₂ peak; VO₂ Pulse: Oxygen pulse; VE max: Ventilation at the maximun exercise; Pet O₂: Concentration of O₂ at the end of the exhalation at the peak; RQ peak: Venilatory equivalent at the peak; VO₂/Work: Oxygen uptake-Work rate relationship; VE/VO₂: Venilatory equivalent for oxygen; VE/VCO₂: Venilatory equivalent for carbon dioxide

Sebbene si sia osservata una riduzione significativa della media del picco di VO₂, questa non era comune a tutti i pazienti: 11 pazienti (group A) hanno manifestato un incremento del picco di VO₂ mentre 9 (group B) hanno mostrato un decremento. (Table 4). Si registra una differenza significativa in termini di HOMA index tra i due gruppi con alti valori nel gruppo A (7.8±3.5) e bassi nel gruppo B (3.3±0.7; p<0.001). Tra i due gruppi non esiste una differenza di BMI e caratteristiche cliniche.

Tabella 7. Parametri antropometrici e funzionali prima e dopo 3 mesi di metformina

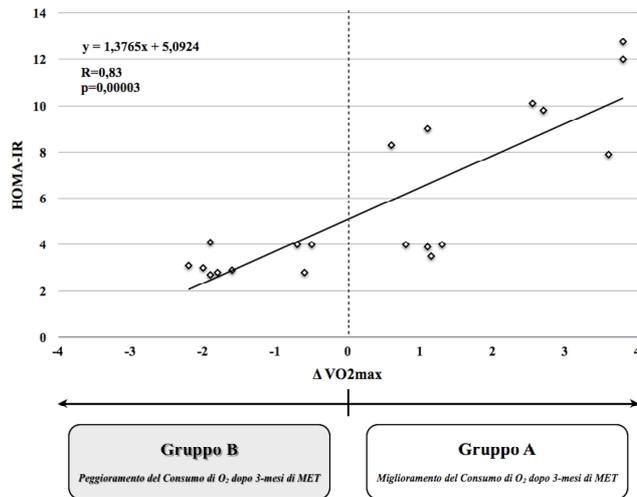
	Gruppo A	Gruppo B	P
ΔPeak VO ₂	+1,2±1.95	-1,48±0,59	-
BMI (Kg/m ² ±SD)	30±4	29±6	NS
HOMA index	7,8±3,5	3,3±0,7	p<0,001
ΔEFR	0.32±0.34	-0.05±0.45	p<0,05

Abbreviations. Peak VO₂: Maximun oxygen uptake; BMI : body mass index ; HOMA index : Homeostasis Model Assessment index

Inoltre si osserva un significativo incremento della RE solo nel gruppo A (2.2±0.22 vs 1.75±0.15, p<0.001) e non nel gruppo B (2.11±0.35 vs 2±0.57, p=n.s).

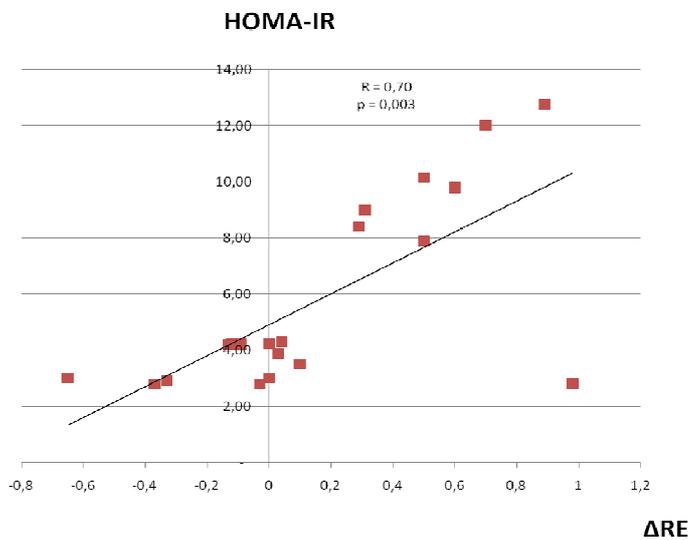
In accordo con l'opposto comportamento osservato nel gruppo A e B, esiste una forte correlazione tra i valori basali di HOMA index e la differenza tra i valori basali e post-metformina di picco di VO₂ (Δpeak VO₂; r=0.83, p<0.001; Figure 1).

Fig. Correlazione tra i valori basali di HOMA e Δ peak VO2



Analogamente esiste una significativa correlazione tra valori basali di HOMA e Δ RE ($r=0.58$, $p<0.01$; Fig 2).

Figura 2. Correlazione tra HOMA IR e variazione della riserva endoteliale



I pazienti con alti valori di HOMA al basale, mostrano un incremento di VO2 di picco e RE, mentre quelli con bassi valori di HOMA hanno una riduzione della capacità fisica e non mostrano un significativo incremento della RE.

CONFRONTO TRA LA TERAPIA CON METFORMINA E L'ESERCIZIO FISICO PROGRAMMATO

GRUPPO METFORMINA I dati raccolti al basale e dopo 12 settimane del gruppo di pazienti randomizzati a sottoporsi alla terapia con metformina (17; 9 M, 8 F) confermano sostanzialmente i risultati ottenuti con il precedente gruppo di pazienti (Tab 8)

Tab 8. Parametri antropometrici, metabolici, CPET ed ecocardiografici basali e dopo 12 settimane di terapia con Met.

	PRE	POST	P value
Homa ± DS	5,03 ± 3,49	3,11 ± 1,37	0,49
BMI (Kg/m ²) ± DS	29,75 ± 4,77	28,40 ± 4,59	0,04
VO ₂ (l/min) ± DS	1,55 ± 0,42	1,46 ± 0,36	0,03
% ± DS	70,92 ± 10,14	67,09 ± 8,61	0,04
WORK (Watt) ± DS	107,62 ± 33,45	104,69 ± 30,71	0,55
O ₂ PULSE ± DS	10,12 ± 3,15	11,12 ± 6,46	0,70
RQ peak	1,13 ± 0,11	1,20 ± 0,08	0,13
AT (l/min) ± DS	1,03 ± 0,30	0,97 ± 0,23	0,39
VE/VCO ₂ ± DS	23,69 ± 2,67	23,41 ± 2,56	0,66
VO ₂ /WORK ± DS	9,52 ± 1,32	9,22 ± 0,81	0,78
ECOCARDIOGRAFIA			
DTD mm ± DS	50,20 ± 3,24	45,69 ± 5,01	0,03
SIV mm ± DS	8,91 ± 0,93	9,09 ± 1,41	0,37
MASSA g ± DS	160,82 ± 31,80	141,13 ± 47,69	0,01
VTD ml ± DS	71,81 ± 14,48	66,20 ± 12,19	0,28
FE % ± DS	66,05 ± 4,70	67,22 ± 6,95	0,78
IVRT sec ± DS	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,02	0,60
E/E' ± DS	8,65 ± 2,34	9,30 ± 2,66	0,79
S (cm/sec) ± DS	6,99 ± 1,29	7,78 ± 0,77	0,002
ε (cm/sec) ± DS	0,29 ± 0,11	0,36 ± 0,18	0,02
SR (sec ⁻¹) ± DS	2,08 ± 0,51	2,41 ± 0,80	0,04

Si è osservata una significativa riduzione del BMI e una riduzione non significativa dell'HOMA index. I parametri CPET hanno messo in evidenza una significativa riduzione del VO₂ di picco espresso in valore assoluto che in percentuale rispetto ai valori predetti. Si sono osservate riduzioni non significative di Work, polso d'ossigeno e soglia anaerobica.

L'ecocardiografia ha mostrato un significativo incremento degli indici di funzione sistolica: onda S, ε e SR; si è osservata anche una riduzione del diametro tele diastolico del VS e della massa del VS.

GRUPPO METFORMINA + ESERCIZIO FISICO Nel gruppo di pazienti sottoposti a 12 settimane di terapia con Metformina associata ad esercizio fisico programmato, 11 hanno portato a termine il periodo di terapia (6 M, 5 F). Abbiamo osservato (Tab 9) una significativa riduzione del BMI e un significativo incremento del VO₂, sia in valore assoluto che come percentuale rispetto ai valori predetti e del Work. Si è osservato un aumento non significativo del polso di ossigeno e una riduzione non significativa dell'Homa index. Per quanto riguarda i parametri ecocardiografici, non si sono osservate differenze significative tra i parametri raccolti al basale e dopo 12 settimane di terapia con metformina associata ad esercizio fisico.

Tab 9. Parametri antropometrici, metabolici, CPET ed ecocardiografici basali e dopo 12 settimane di terapia con Met associata ad esercizio.

	PRE	POST	P value
Homa ± DS	4,27 ± 2,94	3,24 ± 1,25	0,15
BMI (Kg/m ²) ± DS	31,51 ± 4,00	29,55 ± 3,98	0,001
VO ₂ (l/min) ± DS	1,61 ± 0,49	1,80 ± 0,41	0,04
% ± DS	74,80 ± 19,55	82,80 ± 15,64	0,04
WORK (Watt) ± DS	110,60 ± 32,79	133,60 ± 35,31	0,01
O ₂ PULSE ± DS	10,30 ± 2,49	11,27 ± 3,02	0,12
RQ peak	1,14 ± 0,08	1,12 ± 0,11	0,58
AT (l/min) ± DS	1,07 ± 0,24	1,04 ± 0,31	0,61
VE/VCO ₂ ± DS	23,25 ± 2,34	22,16 ± 1,55	0,06
VO ₂ /WORK ± DS	9,33 ± 1,34	9,27 ± 0,85	0,92
ECOCARDIOGRAFIA			
DTD mm ± DS	46,90 ± 5,94	48,50 ± 4,71	0,74
SIV mm ± DS	10,13 ± 2,09	8,45 ± 0,50	0,41
MASSA g ± DS	174,40 ± 35,15	139,00 ± 24,45	0,57
VTD ml ± DS	78,41 ± 21,13	79,86 ± 14,11	0,23
FE % ± DS	68,73 ± 8,94	64,50 ± 7,46	0,23
IVRT sec ± DS	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,02	0,61
E/E' ± DS	9,00 ± 0,73	8,43 ± 1,32	0,42
S (cm/sec) ± DS	6,96 ± 1,13	6,97 ± 0,98	0,42
ε (cm/sec) ± DS	0,22 ± 0,10	0,53 ± 0,59	0,18
SR (sec ⁻¹) ± DS	1,31 ± 0,59	1,06 ± 0,80	0,25

GRUPPO ESERCIZIO FISICO Nel gruppo di pazienti sottoposti a 12 settimane di terapia con solo esercizio fisico programmato 12 hanno portato a termine il periodo di terapia (6 M, 6 F). I dati raccolti mostrano (Tab 10) un non significativo aumento del BMI e un significativo incremento del VO₂, sia in valore assoluto che come percentuale rispetto ai valori predetti e della soglia anaerobica. Si è osservato un aumento non significativo del Workk, del polso di ossigeno e **una riduzione non significativa dell'Homa index**. Per quanto riguarda i parametri ecocardiografici, non si sono osservate differenze significative tra i parametri raccolti al basale e dopo 12 settimane di terapia con metformina associata ad esercizio fisico.

Tab. Parametri antropometrici, metabolici, CPET ed ecocardiografici basali e dopo 12 settimane di terapia con solo esercizio fisico.

	PRE	POST	P value
Homa ± DS	5,12 ± 3,52	3,36 ± 2,04	0,13
BMI (Kg/m ²) ± DS	26,24±4,74	26,80±5,56	0,29
VO ₂ (l/min) ± DS	1,43±0,13	1,78±0,52	0,04
% ± DS	67,00±6,50	85,80±7,50	0,04
WORK (Watt) ± DS	107,80±22,52	116,20±9,20	0,10
O ₂ PULSE ± DS	9,64±1,76	11,70±4,26	0,15
RQ peak	1,26±0,13	1,17±0,42	0,07
AT (l/min) ± DS	0,85±0,08	1,23±0,32	0,02
VE/VCO ₂ ± DS	21,20±5,11	24,43±2,27	0,07
VO ₂ /WORK ± DS	9,73±0,98	9,43±3,44	0,81
ECOCARDIOGRAFIA			
DTD mm ± DS	47,20±5,89	48,68±5,11	0,74
SIV mm ± DS	7,80±1,50	8,22±0,99	0,44
MASSA g ± DS	147,00±15,01	141,20±23,44	0,45
VTD ml ± DS	75,00±15,12	78,85±13,12	0,23
FE % ± DS	68,10±8,20	65,63±7,54	0,23
IVRT sec ± DS	0,08±0,02	0,08±0,02	0,61
E/E' ± DS	8,23±0,76	7,82±0,92	0,70
S (cm/sec) ± DS	7,33±1,75	8,30±0,81	0,72
ε (cm/sec) ± DS	0,34±0,45	0,17±0,04	0,18
SR (sec ⁻¹) ± DS	0,83±0,24	0,89±0,12	0,40

CONFRONTO TRA I GRUPPI L'analisi delle variazioni tra i valori prima e dopo i vari trattamenti riguardante i tradizionali parametri ecocardiografici non ha messo in evidenza differenze fra i gruppi statisticamente significative (Tab 11). Viceversa i valori di Strain hanno mostrato una riduzione significativa nel gruppo Ex nei confronti dell'aumento del gruppo M e del gruppo ME. I valori di SR sono significativamente aumentati nel gruppo M rispetto alla riduzione registrata nel gruppo ME.

Tab 11. Differenze dei parametri ecocardiografici basali e dopo 12 settimane di terapia nei gruppi.

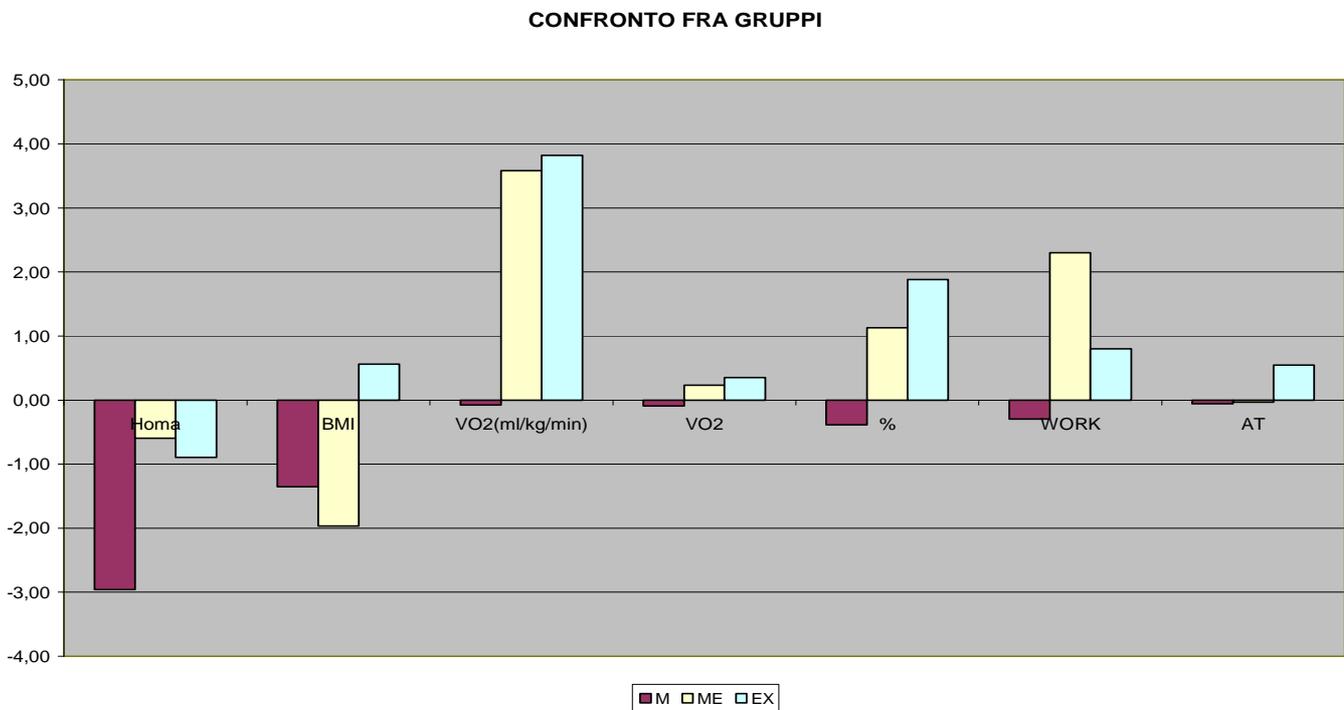
	M	ME	EX	p value		
				M vs ME	M vs EX	ME vs EX
DTD mm ± DS	-4,51 ± 1,20	-1,68 ± 0,49	2,42 ± 0,76	0,44	0,90	0,48
SIV mm ± DS	0,18 ± 15,04	1,60 ± 17,79	1,48 ± 16,98	0,90	0,90	0,83
MASSA g ± DS	-19,69 ± 49,45	-35,50 ± 17,21	-5,80 ± 16,99	0,23	0,22	0,94
VTD ml ± DS	-8,61 ± 15,14	1,45 ± 9,86	3,85 ± 11,88	0,09	0,08	0,98
FE % ± DS	1,17 ± 8,01	-4,23 ± 31,06	-2,47 ± 2,12	0,22	0,44	0,26
IVRT sec ± DS	0,00 ± 0,04	-0,01 ± 0,04	0,00 ± 0,35	0,26	0,25	0,30
E/E' ± DS	-2,35 ± 1,26	-0,57 ± 1,28	2,59 ± 1,32	0,38	0,44	0,19
S (cm/sec) ± DS	1,79 ± 4,66	-0,01 ± 3,94	0,97 ± 3,29	0,25	0,47	0,06
ε (cm/sec) ± DS	0,10 ± 0,11	0,31 ± 0,60	-0,20 ± 0,44	0,34	0,04	0,04
SR (sec ⁻¹) ± DS	0,39 ± 0,53	-0,26 ± 0,59	0,06 ± 0,20	0,03	0,09	0,18

Nel gruppo Ex si è registrato un significativo aumento del BMI quando confrontato con a riduzione osservata del gruppo M e nel gruppo ME. La variazione del VO₂ indicizzato per il peso corporeo è risultata significativamente diversa nel gruppo M rispetto al gruppo ME. VO₂ e la sua percentuale rispetto ai valori predetti hanno registrato una riduzione nel gruppo M significativamente diversa dall'aumento registrato nel gruppo ME ed Ex. Anche il work è significativamente aumentato nel gruppo ME rispetto alla riduzione registrata nel gruppo M. La soglia anaerobica è significativamente aumentata nel gruppo EX sia rispetto al gruppo M che al gruppo ME. Il rapporto VO₂/WORK é risultato significativamente aumentato nel gruppo Ex rispetto al gruppo M ed ME. Non sono state osservate altre differenze significative tra il gruppo ME e il gruppo Ex (Tab 12 e Grafico 1).

Tab 12. Differenze dei parametri metabolici, antropometrici e CPET basali e dopo 12 settimane di terapia nei gruppi.

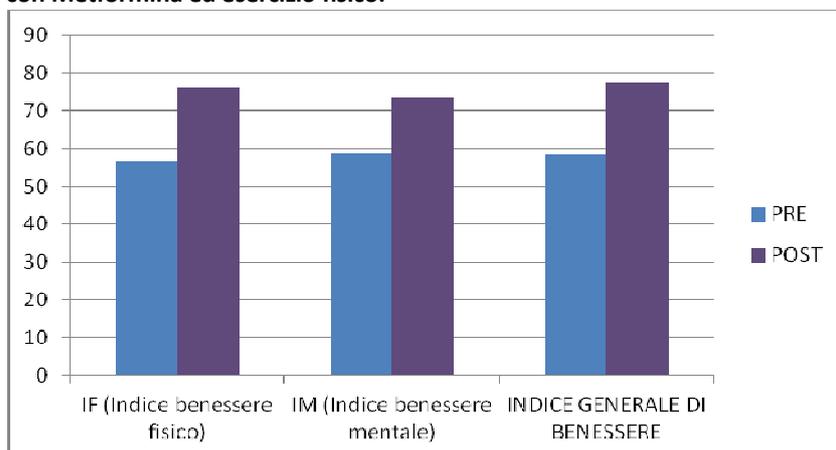
	M	ME	EX	p value		
				M vs ME	M vs EX	ME vs EX
Homa ± DS	-2,96 ± 4,56	-0,60 ± 3,15	1,76 ± 3,26	0,17	0,18	0,15
BMI (Kg/m ²) ± DS	-1,35 ± 2,15	-1,96 ± 0,60	0,56 ± 1,56	0,34	0,02	0,0005
VO2(ml/kg/min)±DS	-0,08 ± 1,25	3,58 ± 3,64	3,82 ± 8,39	0,01	0,18	0,94
VO2 (l/min) ± DS	-0,09 ± 0,13	0,23 ± 0,31	0,35 ± 0,46	0,01	0,02	0,51
% ± DS	3,84 ± 6,00	11,30 ± 15,33	18,80 ± 25,20	0,01	0,02	0,43
WORK(Watt) ± DS	-2,92 ± 17,14	23,00 ± 22,21	8,00 ± 16,42	0,01	0,14	0,10
AT (l/min) ± DS	-0,06 ± 0,23	-0,03 ± 0,21	0,55 ± 0,46	0,79	0,002	0,003
O2 PULSE ± DS	0,14 ± 4,65	0,97 ± 1,79	-0,28 ± 5,39	0,56	0,85	0,50
RQ peak ± DS	-0,12 ± 0,44	-0,02 ± 0,11	-0,04 ± 0,13	0,46	0,77	0,94
VE/VCO2 ± DS	-1,72 ± 4,18	-0,06 ± 1,87	-0,24 ± 2,95	0,22	0,33	0,87
VO2/WORK ± DS	-3,88 ± 10,65	-1,09 ± 1,62	2,58 ± 3,94	0,37	0,04	0,02

Grafico 1. Differenze dei principali parametri metabolici, antropometrici e CPET basali e dopo 12 settimane di terapia nei gruppi



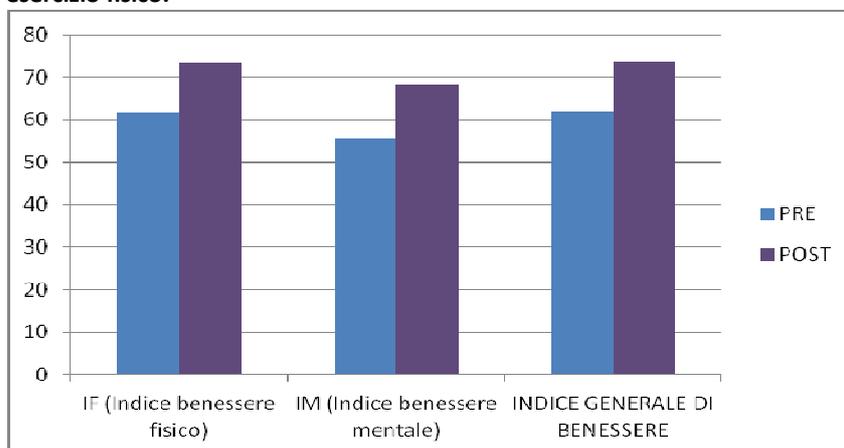
Dopo 12 settimane di trattamento con esercizio fisico più metformina si è osservato un significativo miglioramento degli indici di salute fisica ($56,84 \pm 19$ vs $76,11 \pm 14$; $p 0,004$) mentale ($58,75 \pm 18$ vs $73,68 \pm 17$; $p 0,01$) e generale ($58,33 \pm 19$ vs $77,29 \pm 16$; $p 0,005$) (Grafico 2).

Grafico 2. Indici di benessere fisico, mentale e generale prima e dopo terapia con Metformina ed esercizio fisico.



Analogamente anche nel gruppo E si è osservato un significativo miglioramento degli indici di salute fisica ($61,9 \pm 13$ vs $73,56 \pm 10$; $p 0,004$) mentale ($55,8 \pm 20$ vs $68,33 \pm 18$; $p 0,001$) e generale ($62,14 \pm 17$ vs $73,70 \pm 12$; $p 0,003$).

Grafico 3. Indici di benessere fisico, mentale e generale prima e dopo ed esercizio fisico.



Non sono emerse significative differenze tra le variazioni degli indici di benessere fisico, mentale e generale osservate nel gruppo ME se paragonate con quelle osservate nel gruppo E (IF $19,26 \pm 14$ vs $11,66 \pm 11$; p NS – IM $14,93 \pm 14$ vs $12,53 \pm 10$; p NS – IG $18,95 \pm 15$ vs $10,74 \pm 12$; p NS).

DISCUSSIONE

I dati del nostro studio dimostrano che:

- la popolazione selezionata presenta un elevato BMI essendo caratterizzata da soggetti in sovrappeso o francamente obesi;
- i soggetti affetti da insulino-resistenza presentano una performance cardiopolmonare ridotta rispetto alla popolazione generale come dimostrato dai bassi valori di VO_2 di picco e work medi; un'iniziale disfunzione diastolica è stata messa in evidenza dall'analisi dei parametri ecocardiografici quando paragonati con i dati di una popolazione sana;
- non esistono significative differenze in termini di HOMA index, principali parametri CPET ed ecocardiografici tra i pazienti obesi e i pazienti non obesi; la soglia anaerobica risulta significativamente più alta nei pazienti non obesi. La popolazione dei pazienti obesi non risulta pertanto avere una maggiore compromissione cardiometabolica;
- 3 mesi di terapia con metformina determina una significativa riduzione del BMI e non migliora la performance cardiovascolare nei pazienti insulino-resistenti determinandone, invece, una lieve ma significativa riduzione. A tali riscontri si associa un aumento della $PetO_2$ che sembra indicare l'incapacità della massa muscolare di utilizzare l' O_2 come substrato metabolico.
- tuttavia la metformina determina un miglioramento della performance cardiopolmonare e della riserva endoteliale dei pazienti con indici di più elevata insulino-resistenza e una riduzione della performance cardiopolmonare ed un effetto nullo nei pazienti con minore insulino-resistenza;
- il trattamento con metformina è in grado di produrre un incremento significativo della funzione sistolica longitudinale del ventricolo sinistro a riposo come evidenziato dall'analisi di parametri sub-clinici derivati dall'analisi TDI e Speckle tracking imaging;
- nei pazienti sottoposti a terapia con esercizio fisico da solo o in associazione alla metformina non si determinano miglioramenti dei parametri di funzione sistolica a riposo;
- l'esercizio fisico, da solo o in associazione alla terapia con metformina, determina un significativo miglioramento dei parametri di performance cardiovascolare;
- il confronto fra i gruppi evidenzia come gli effetti negative della metformina sulla performance cardiopolmonare possono essere invertiti dall'associazione con l'esercizio fisico;

- l'esercizio fisico da solo è in grado di determinare gli stessi effetti positivi ma non determina, come nel caso della terapia con metformina, una riduzione del BMI;
- la terapia con esercizio fisico, da sola o in associazione alla metformina determina un miglioramento degli indici di qualità di vita fisica, mentale e generale e non esistono differenze significative delle variazioni fra i due gruppi.

Il picco di VO₂, la capacità massima dell'organismo di utilizzare l'ossigeno, identifica la potenzialità di un individuo di svolgere un lavoro aerobico. Tale parametro è influenzato dall'età, dal sesso, dal livello di allenamento come dalla presenza di patologie o terapie in atto. Sono ben conosciute le potenzialità della capacità di esercizio come potente fattore prognostico in soggetti sani. Dopo l'indicizzazione per età la capacità di esercizio espresso in equivalenti metabolici (MET) è stata un forte fattore prognostico del rischio di morte in soggetti sani¹⁰⁰: ogni 1-MET di aumento nella capacità di esercizio determina il 12% dell'aumento di sopravvivenza.

Il ridotto VO₂ di picco al basale osservato nella popolazione esaminata nel nostro studio può essere interpretato come un effetto depressivo indotto dall'insulino-resistenza sulla funzione cardiopolmonare. Coerentemente con tale ipotesi un recente studio ha mostrato come l'IR predice l'incidenza di insufficienza cardiaca indipendentemente dai noti fattori di rischio, incluso il diabete²⁵. Tali evidenze hanno aumentato l'interesse riguardo i meccanismi metabolici coinvolti nello sviluppo di disfunzione miocardica. Wong et hanno studiato gli effetti della sindrome metabolica sulla performance cardiopolmonare in soggetti esenti da malattie cardiovascolari e con ecocardiografia da stress negativa per ischemia mettendo in evidenza come in tali pazienti possa essere presente un'alterazione preclinica anche della funzione sistolica associata a una riduzione della tolleranza all'esercizio fisico.⁸³ È stato evidenziato un progressivo declino della capacità di esercizio con l'aumento del numero delle componenti della sindrome metabolica. Numerosi modelli animali hanno dimostrato l'esistenza di una cardiomiopatia da insulino-resistenza caratterizzata da inefficienza energetica del miocardio⁸⁴. L'IR, nei miociti, determina un'inefficienza energetica attraverso il passaggio ad una maggiore utilizzazione degli acidi grassi, meno efficiente energeticamente, rispetto al glucosio. Inoltre in situazioni di stress i miociti non sono in grado di utilizzare il

glucosio come avviene nei soggetti sani. Tali meccanismi, insieme alla nota disfunzione endoteliale osservata nei soggetti IR³⁸, possono contribuire alla riduzione della performance cardiopolmonare che abbiamo osservato.

Voulgari et al hanno dimostrato che individui affetti da IR, normopeso, hanno un elevato rischio di sviluppare scompenso cardiaco se confrontati con una popolazione di soggetti obesi ma metabolicamente sani⁷⁰. Nella nostra popolazione nel gruppo dei pazienti obesi non si sono registrati dei parametri cardiometabolici ed ecografici significativamente più compromessi rispetto al gruppo di soggetti non obesi. Nemmeno l'indice di insulino-resistenza è risultato significativamente diverso tra i due gruppi. Questi dati confermano come, in accordo con i precedenti studi, l'insulino-resistenza deve essere considerata come l'alterazione metabolica centrale che può determinare la riduzione della performance cardiovascolare e l'evoluzione verso lo scompenso cardiaco, mentre i pazienti senza alterazioni metaboliche, l'aumento isolato del BMI non è in grado di determinare tali effetti.

I risultati del *Diabetes Prevention Program* (DPP)⁷¹ e altri studi analoghi hanno dimostrato che le modificazioni dello stile di vita come una adeguata dieta e l'incremento dell'attività fisica svolgono un ruolo determinante nella prevenzione e nel rallentamento della transizione dallo stato di insulino-resistenza al diabete franco.^{85,86} In seguito a tali evidenze, è stato prodotto un grande sforzo per migliorare l'aderenza alle indicazioni di terapia fisica e comportamentale da parte dei soggetti a rischio.^{87,88,89,90,91} Il DPP ha, inoltre, dimostrato che la metformina, un biguanide comunemente prescritto ai pazienti diabetici, ha la capacità di determinare un significativo rallentamento o addirittura una mancata progressione della condizione di IGT verso quella di diabete per cui un vasto interesse si è di recente indirizzato al suo possibile utilizzo nei pazienti a rischio metabolico glucidico al fine di prevenirne la transizione verso il diabete.^{92,93,94}

La metformina ha dimostrato, inoltre, di essere in grado di ridurre il consumo di ossigeno in una popolazione di individui non insulino-resistenti rispetto a un gruppo di controllo trattato con placebo⁹⁵. Studi in vitro hanno dimostrato che la metformina ha un'azione inibitoria nei

confronti del *complesso I* del sistema di trasporto mitocondriale (trasferimento di elettroni dal NADH al coenzima Q10, fig. 4).^{96,97,98,99,100} L'inibizione di tale complesso può rallentare il trasferimento di equivalenti riducenti durante il ciclo di Krebs e, potenzialmente, limitare le capacità del metabolismo ossidativo. Nei grandi gruppi muscolari esiste la possibilità di usufruire di una certa riserva mitocondriale durante l'esercizio ma, se l'inibizione del *complesso I* compromette tale riserva, si avrà un decremento della prestazione cardiopolmonare. È quindi importante, sia da un punto di vista sperimentale che clinico, capire se il trattamento con metformina sia in grado di influenzare la capacità di esercizio anche in una popolazione di insulino-resistenti, generalmente considerata sana e che potrebbe beneficiare di tale terapia per ridurre il rischio di evoluzione verso il diabete.

Il nostro studio ci ha permesso di studiare la relazione tra Homa-index e i parametri cardiopolmonari e di funzione endoteliale, mostrando come esistono due differenti effetti sul consumo di ossigeno in base ai valori basali di Homa index. I pazienti con bassi livelli di Homa mostrano una risposta al trattamento simile a quella dei soggetti sani: la metformina induce un lieve ma significativo decremento del picco di VO₂. Tale effetto si associa ad un aumento della PetO₂ al picco dell'esercizio come se ci fosse un'impossibilità delle masse muscolari ad utilizzare l' O₂ come substrato metabolico; tale effetto può essere mediato dall'azione della metformina a livello mitocondriale. Viceversa, nei pazienti con elevati valori di IR, dopo 3 mesi di trattamento con metformina, si osserva una normalizzazione dei parametri cardiopolmonari. Ipotizziamo che l'impatto negativo della metformina sulla performance cardiopolmonare può essere compensato dal suo effetto positivo sull'IR, la causa primaria dell'inefficienza cardiopolmonare di tali individui. La presenza di una disfunzione endoteliale è stata dimostrata negli stati di IR ed essa può rappresentare un precoce evento nello sviluppo dell'aterosclerosi¹⁰¹. L'IR può essere correlata alla disfunzione endoteliale da meccanismi molecolari e fisiopatologici come l'alterazione delle vie di segnale intracellulare e la via di trasduzione del segnale PI-3-kinase/Akt, comune sia all'azione dell'insulina che alla produzione dell'ossido nitrico¹⁰². Nei pazienti affetti da sindrome metabolica è stata dimostrata una compromissione della riserva endoteliale confermando che l'attività dell'enzima eNOS è compromessa in presenza di resistenza all'insulina.¹⁰³ Precedenti studi¹⁰⁴ hanno dimostrato in una popolazione con SM, insulino-resistente, un miglioramento della riserva endoteliale dopo

tre mesi di terapia con metformina. Col nostro studio definiamo meglio tali risultati mostrando come il miglioramento della funzione endoteliale indotto dalla metformina è fortemente correlato con i valori basali di Homa: l'incremento della RE si osserva solo nei pazienti col alti livelli di insulino-resistenza.

Pertanto ipotizziamo che l'effetto benefico indotto dalla metformina sulla performance cardiopolmonare nei pazienti col elevato Homa index possa essere spiegato, almeno in parte, da un impatto favorevole del trattamento sulla funzione endoteliale. Tale deduzione è in accordo con i nostri precedenti studi sulle donne in postmenopausa che presentano caratteristiche simili alla sindrome metabolica. In tali studi la normalizzazione della funzione endoteliale come risultato della terapia ormonale sostitutiva era accompagnato da un incremento della performance cardiopolmonare¹⁰⁵.

Il presente studio evidenzia, come, in una popolazione con alterato metabolismo glucidico e insulino-resistenza, la terapia con metformina, sia in grado di influenzare in maniera positiva la funzione sistolica del ventricolo sinistro a riposo. Tale evidenza si manifesta attraverso il significativo incremento dell'onda S, dello ϵ e dello SR dopo 3 mesi di terapia con metformina. Tale effetto della metformina sulla funzione sistolica del ventricolo sinistro è già stato descritto in modelli animali di scompenso cardiaco in cui è stato dimostrato che la somministrazione cronica di Metformina determina un significativo effetto cardioprotettivo ed un incremento della funzione ventricolare sinistra^{106,107}. L'attivazione della via di trasduzione del segnale AMPK-eNOS dovrebbe essere il meccanismo che spiega tali risultati sui modelli animali e l'incremento degli indici di funzione sistolica a riposo registrati nella nostra popolazione. Tuttavia non si conosce se tali effetti sugli indici di funzione sistolica a riposo possano tradursi in un beneficio sulla performance miocardica sotto sforzo e sulla riserva contrattile. L'associazione del training fisico alla terapia con metformina annulla gli effetti di questa terapia sugli indici di funzione sistolica. Rimane da chiarire il meccanismo fisiopatologico attraverso cui avviene questa interazione negativa. Ipotizziamo che questo avvenga a causa dell'interazione comune sia dell'esercizio fisico che dalla metformina sull'espressione della

AMPK¹⁰⁸ (proteina chinasi attivata dall'AMP) oppure a causa della regolazione del tono simpato-vagale indotta dal training fisico.

Nell'uomo le segnalazioni della letteratura in tema di SM e disfunzione cardiaca riguardano, nella maggioranza dei casi, il riscontro di una compromissione della funzione diastolica^{109,110} che viene confermata dai risultati della nostra popolazione generale. A differenza di quanto descritto precedentemente¹¹¹, non abbiamo osservato miglioramenti significativi degli indici di funzione sistolica. Ipotizziamo che questo sia dovuto a differenti caratteristiche delle popolazioni dei due studio in quanto nello studio citato la popolazione presentava al basale una compromissione della funzione sistolica al basale, normale, per definizione, nella nostra popolazione.

Nonostante le società scientifiche raccomandino fortemente l'esercizio fisico come pietra miliare per la prevenzione del diabete, recentemente è stata suggerita l'associazione della terapia con Met. Tuttavia solo pochi studi hanno effettivamente studiato l'effettiva efficacia della terapia di combinazione tra Metformina ed esercizio fisico rispetto ai singoli trattamenti. I dati attualmente a disposizione suggeriscono un vantaggio dell'associazione in termini di riduzione del peso corporeo¹¹² ma un piccolo effetto o nullo in termini di riduzione dell'insulino-resistenza¹¹³. È stato dimostrato come il training fisico incrementa la sensibilità all'insulina nei soggetti affetti da prediabete⁷³ ma l'associazione con la metformina non determina un ulteriore aumento della sensibilità all'insulina e può attenuare l'effetto del training fisico stesso.

Il nostro studio, aggiunge che, anche in termini di miglioramento della performance cardiopolmonare, l'associazione della terapia con metformina all'esercizio fisico non è superiore rispetto all'esercizio fisico da solo. Viceversa l'aggiunta di un programma sorvegliato e controllato di allenamento fisico in soggetti con insulino-resistenza è cruciale nel far regredire gli effetti negativi della Metformina sul consumo di O₂, consentendo così anche di incrementare la *compliance* alla terapia. Tali risultati rafforzano l'idea che l'interazione metformina-esercizio non sia deducibile dalla somma dei loro effetti individuali.

I vantaggi ottenuti dalla metformina in termini di riduzione del BMI confermati dai nostri dati, dovrebbero essere valutati in base alla percentuale di massa grassa e di massa magra che viene persa.

Anche in termini di modifiche della qualità della vita i nostri dati non mostrano un vantaggio dell'associazione Metformina ed esercizio rispetto all'esercizio fisico da solo.

Conclusioni

Il nostro lavoro dimostra che i pazienti con insulino-resistenza sono caratterizzati da indici di ridotta performance cardio-polmonare e disfunzione diastolica all'ecocardiografia senza differenze tra soggetti obesi o non obesi.

La terapia con metformina è in grado di migliorare gli indici di funzione sistolica a riposo e la riserva endoteliale; tali risultati positivi non si sono tradotti in un miglioramento della capacità fisica nella totalità dei nostri pazienti, ma solo in quelli con alti livelli di insulino-resistenza.

Gli effetti riscontrati sulla capacità fisica sono particolarmente importanti perché una riduzione del VO_2 causata da incongrua terapia con metformina può influire sulla capacità di esercizio, nonché sulla *compliance* all'attività fisica che noi sappiamo essere un elemento cruciale nella gestione clinica di questi pazienti.

L'assenza di evidenze di un beneficio dell'associazione tra Metformina ed esercizio fisico, rispetto al solo esercizio fisico, in termini di insulino-resistenza, performance cardiopolmonare e qualità della vita, ci permette di affermare che l'esercizio fisico programmato si la terapia di prima scelta nel trattamento dei pazienti affetti da insulino-resistenza.

La Metformina dovrebbe essere suggerita come terapia di seconda scelta fino a quando altri studi non dimostrino il suo effettivo vantaggio in associazione all'esercizio fisico.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-607.
- ² Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, Meigs JB, Bonadonna RC, Muggeo M. Population-based incidence rates and risk factors for type 2 diabetes in white individuals: the Bruneck study. *Diabetes* 2004 Jul;53(7):1782-9.
- ³ Wyne KL. Free fatty acids and type 2 diabetes mellitus. *Am J Med* 2003;115(Suppl 8A):29S-36S.
- ⁴ Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW, Shulman GI. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest* 1996;97:2859-65.
- ⁵ Du XL, Edelstein D, Dimmeler S, Ju Q, Sui C, Brownlee M. Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site. *J Clin Invest* 2001;108:1341-8.
- ⁶ Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res* 2005;96:939-49.
- ⁷ Acosta AM, Escalona M, Maiz A, Pollak F, Leighton F. O. Determinacion del indice de resistencia insulinica mediante HOMA en una poblacion de la Region metropolitana de Chile. *REV MED CHILE* 2002;130(11):1227-1231.
- ⁸ Matthews DR, Hosker JP. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
- ⁹ Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-age men. *JAMA* 2002;288:2709-16.
- ¹⁰ Hone J, Accilli D, Al-Gazali LI, Lestringant G, Orban T, Taylor SI. Homozygosity for a new mutation (Ile 119→Met) in the insulin receptor gene in 5 sibs with familial insulin resistance. *J Med Genet* 1994;31:715-6.
- ¹¹ Muller-Wieland D, Taub R, Tewari DS, Kriauciunas KM, Sethu S, Reddy K, Kahn CR. Insulin-receptor gene and its expression in patients with insulin resistance. *Diabetes* 1989;38:31-8.
- ¹² Selby JV, Newman B, Quiroga J, Christian JC, Austin MA, Fabsitz RR. Concordance for dyslipidemic hypertension in male twins. *JAMA* 1991;265:2079-84.
- ¹³ Bouchard C. Genetics and the metabolic syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995;19(Suppl 1):S52-9.
- ¹⁴ Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486-97.
- ¹⁵ World Health Organization. Definition, Diagnosis, and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO 1999.

-
- ¹⁶ Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome. An American Heart Association/National heart, Lung and Blood Institute scientific statement. *Circulation* 2005;112:e285-90.
- ¹⁷ Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome - a new worldwide definition. *Lancet* 2005;366:1059-62.
- ¹⁸ Fang ZY, Yuda S, Anderson V, Short L, Case C, Marwick TH. Echocardiographic detection of early diabetic myocardial disease. *JACC* 2003;41:611-7.
- ¹⁹ Vinereanu D, Nicolaidis E, Tweddel AC, Mädler CF, Holst B, Boden LE, Cinteza M, Rees AE, Fraser AG. Subclinical left ventricular dysfunction in asymptomatic patients with type II diabetes mellitus, related to serum lipids and glycated haemoglobin. *Clinical Science* 2003;105:591-9.
- ²⁰ Galderisi M, De Simone G, Innelli P, Turco A, Turco S, Capaldo B, Riccardi G, de Divitiis O. Impaired inotropic response in type 2 diabetes mellitus: a strain rate imaging study. *Am J Hypertension* 2007;20:548-55.
- ²¹ Kim JK, Kim YJ, Fillmore JJ, Chen Y, Moore I, Lee J, Yuan M, Li ZW, Karin M, Perret P, Shoelson SE, Shulman GI. Prevention of fat-induced insulin resistance by salicylate. *J Clin Invest* 2001;108:437-46.
- ²² Ilercil A, Devereux RB, Roman MJ, Paranicas M, O'Grady MJ, Lee ET, Welty TK, Fabsitz RR, Howard BV. Associations of insulin levels with left ventricular structure and function in American Indians: the Strong Heart Study. *Diabetes* 2002;51:1543-7.
- ²³ Leyden E. Asthma and diabetes mellitus. *Zeitschr Klin Med* 1881;3:358-64.
- ²⁴ Taegtmeyer H, Passmore JM. Defective energy metabolism of the heart in diabetes. *Lancet* 1985;1:139-41.
- ²⁵ Witteles RM, Fowler MB. Insulin-resistant cardiomyopathy clinical evidence, mechanisms, and treatment options. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51: 93-102
- ²⁶ Arnlov J, Lind L, Zethelius B, et al. Several factors associated with the insulin resistance syndrome are predictors of left ventricular systolic dysfunction in a male population after 20 years of follow-up. *Am Heart J* 2001;142:720-4.
- ²⁷ Ingelsson E, Sundstrom J, Arnlov J, Zethelius B, Lind L. Insulin resistance and risk of congestive heart failure. *JAMA* 2005;294: 334-41.
- ²⁸ Piano D, Cadeddu C, Deidda M, Piras A, Binaghi G, Cossu E, Manconi E, Mercurio G. Riduzione della riserva contrattile nei soggetti con sindrome metabolica. Confronto con diabetici tipo 2 ed individui sani. *G Ital Cardiol* 2008;9:Suppl.1-12:C296.
- ²⁹ An D, Rodrigues B. Role of changes in cardiac metabolism in development of diabetic cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291:H1489-506.
- ³⁰ Witteles RM. Insulin-resistant cardiomyopathy. Clinical evidence, mechanisms and treatment options. *JACC* 2008;51:93-102.
- ³¹ Cooke JP. The endothelium: a new target for therapy. *Vasc Med* 2000;5:49-53.

-
- ³² Vincent MA, Barrett EJ, Lindner JR, Clark MG, Rattigan S. Inhibiting NOS blocks microvascular recruitment and blunts muscle glucose uptake in response to insulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285:E123-9.
- ³³ Baron AD, Zhu JS, Marshall S, Irsula O, Brechtel G, Keech C. Insulin Resistance after hypertension induced by the nitric oxide synthesis inhibitor L-NMMA in rats. *Am J Physiol* 1995;269:E709-15.
- ³⁴ Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992;339:572-75.
- ³⁵ Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R, Vallance P. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1455-59.
- ³⁶ Kielstein JT, Impraïm B, Simmel S, Bode-Böger SM, Tsikas D, Frölich JC, Hoyer MM, Haller H, Fliser D. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation* 2004;109:172-77.
- ³⁷ Huang PL, Huang Z, Mashimo H, Bloch KD, Moskowitz MA, Bevan JA, Fishman MC. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature* 1995;377:239-42.
- ³⁸ Shesely EG, Maeda N, Kim HS, Desai KM, Kregel JH, Laubach VE, Sherman PA, Sessa WC, Smithies O. Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:13176-81.
- ³⁹ Pinkney JH, Stehouwer CD, Coppack SW, Yudkin JS. Endothelial dysfunction: cause of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 1997;46(Suppl 2):S9-13.
- ⁴⁰ Laakso M, Edelman SV, Brechtel G, Baron AD. Impaired insulin-mediated skeletal muscle blood flow in patients with NIDDM. *Diabetes* 1992;41:1076-83.
- ⁴¹ Miles PD, Levisetti M, Reichart D, Khourshed M, Moossa AR, Olefsky JM. Kinetics of insulin action in vivo. Identification of rate-limiting steps. *Diabetes* 1995;44:947-53.
- ⁴² Baron AD, Brechtel G, Wallace P, Edelman SV. Rates and tissue sites of non-insulin- and insulin-mediated glucose uptake in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1988;255: E769-E774.
- ⁴³ Holloszy JO, Hansen PA. Regulation of glucose transport into skeletal muscle. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 1996;128:99-193.
- ⁴⁴ Nesher R, Karl IE, Kipnis DM. Dissociation of effects of insulin and contraction on glucose transport in rat epitrochlearis muscle. *Am J Physiol.* 1985 Sep;249(3 Pt 1):C226-32.
- ⁴⁵ Azevedo JL Jr, Carey JO, Pories WJ, Morris PG, Dohm GL. Hypoxia stimulates glucose transport in insulin-resistant human skeletal muscle. *Diabetes.* 1995 Jun;44(6):695-8.
- ⁴⁶ Balon TW, Nadler JL. Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 1997 Jan;82(1):359-63.
- ⁴⁷ Taguchi T, Kishikawa H, Motoshima H, Sakai K, Nishiyama T, Yoshizato K, Shirakami A, Toyonaga T, Shirontani T, Araki E, Shichiri M. Involvement of bradykinin in acute exercise-induced increase of glucose uptake and GLUT-4 translocation in skeletal muscle: studies in normal and diabetic humans and rats. *Metabolism.* 2000 Jul;49(7):920-30.

-
- ⁴⁸ Kurth-Kraczek EJ, Hirshman MF, Goodyear LJ, Winder WW. 5' AMP-activated protein kinase activation causes GLUT4 translocation in skeletal muscle. *Diabetes*. 1999 Aug;48(8):1667-71.
- ⁴⁹ Zierath JR, He L, Gumà A, Odegaard Wahlström E, Klip A, Wallberg-Henriksson H. Insulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle from patients with NIDDM. *Diabetologia*. 1996 Oct;39(10):1180-9.
- ⁵⁰ Henriksen EJ, Halseth AE. Early alterations in soleus GLUT-4, glucose transport, and glycogen in voluntary running rats. *J Appl Physiol*. 1994 May;76(5):1862-7.
- ⁵¹ Brozinick JT Jr, Etgen GJ Jr, Yaspelkis BB 3rd, Kang HY, Ivy JL. Effects of exercise training on muscle GLUT-4 protein content and translocation in obese Zucker rats. *Am J Physiol*. 1993 Sep;265(3 Pt 1):E419-27.
- ⁵² Devlin JT, Horton ES. Effects of prior high-intensity exercise on glucose metabolism in normal and insulin-resistant men. *Diabetes* 34: 973–979, 1985.
- ⁵³ Richter EA, Garetto LP, Goodman MN, Ruderman NB. Muscle glucose metabolism following exercise in the rat: increased sensitivity to insulin. *J Clin Invest* 1982;69(4):785-93.
- ⁵⁴ Holloszy JO. Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *J Biol Chem* 1967;242(9):2278-82.
- ⁵⁵ Oshel KM, Knight JB, Cao KT, Thai MV, Olson AL. Identification of a 30-base pair regulatory element and novel DNA binding protein that regulates the human GLUT4 promoter in transgenic mice. *J Biol Chem*. 2000 Aug 4;275(31):23666-73.
- ⁵⁶ Stumvoll M, Nurjhan N, Perriello G, Dailey G and Gerich, JE. Metabolic effects of metformin in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1995;333:550–554.
- ⁵⁷ Hundal RS, Krssak M, Dufour S, Laurent D, Lebon V, Chandramouli V, Inzucchi SE, Schumann WC, Petersen KF, Landau BR, Shulman GI. Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes* 2000;49:2063–2069.
- ⁵⁸ Winder WW, Hardie DG. AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in type 2 diabetes. *Am J Physiol* 1999;277:E1–E10.
- ⁵⁹ Owen MR, Doran E, Halestrap AP. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J*. 2000 Jun 15;348 Pt 3:607-14.
- ⁶⁰ Myers JN. *Essentials of Cardiopulmonary Exercise Testing*. Champaign, Ill: Human Kinetics; 1996.
- ⁶¹ Miyamura M, Honda Y. Oxygen intake and cardiac output during maximal treadmill and bicycle exercise. *J Appl Physiol*. 1972;32:185–188.
- ⁶² Wasserman K, Beaver WL, Whipp BJ. Gas exchange theory and the lactic acidosis (anaerobic) threshold. *Circulation*. 1990;81(suppl):II- 14–II-30.
- ⁶³ Santos EL, Giannella-Neto A. Comparison of computerized methods for detecting the ventilatory thresholds. *Eur J Appl Physiol*. 2004;93:315– 24.
- ⁶⁴ Mezzani A, Corra U, Bosimini E, Giordano A, Giannuzzi P. Contribution of peak respiratory exchange ratio to peak $\dot{V}O_2$ prognostic reliability in patients with chronic heart failure and severely reduced exercise capacity. *Am Heart J*. 2003;145:1102–1107.

-
- ⁶⁵ Lau AC, Lo MK, Leung GT, Choi FP, Yam LY, Wasserman K. Altered exercise gas exchange as related to microalbuminuria in type 2 diabetic patients. *Chest* 2004 Apr;125(4):1292-8.
- ⁶⁶ Regensteiner JG, Bauer TA, Reusch JE, Quaife RA, Chen MY, Smith SC, Miller TM, Groves BM, Wolfel EE. Cardiac dysfunction during exercise in uncomplicated type 2 diabetes. *Med Sci Sports Exerc* 2009 May;41(5):977-84.
- ⁶⁷ Nyholm B, Nielsen MF, Kristensen K, Nielsen S, Østergård T, Pedersen SB, Christiansen T, Richelsen B, Jensen MD, Schmitz O. Evidence of increased visceral obesity and reduced physical fitness in healthy insulin-resistant first-degree relatives of type 2 diabetic patients. *Eur J Endocrinol.* 2004 Feb;150(2):207-14.
- ⁶⁸ Orio F Jr, Palomba S, Cascella T, De Simone B, Manguso F, Savastano S, Russo T, Tolino A, Zullo F, Lombardi G, Azziz R, Colao A. Improvement in endothelial structure and function after metformin treatment in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome: results of a 6-month study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 Nov;90(11):6072-6. Epub 2005 Aug 23.
- ⁶⁹ Ingelsson E, Sundstrom J, Arnlov J, Zethelius B, Lind L. Insulin resistance and risk of congestive heart failure. *JAMA* 2005;294:334–41.
- 70 Christina Voulgari, Nicholas Tentolouris, Polychronis Dilaveris, Dimitris Tousoulis, Nicholas Katsilambros, Christodoulos Stefanadis. Increased Heart Failure Risk in Normal-Weight People With Metabolic Syndrome Compared With Metabolically Healthy Obese Individuals. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:1343–50.
- 71 Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM; Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *New Engl J Med* 2002;346(6):393-403.
- 72 Braun B, Eze P, Stephens BR, et al.. Impact of metformin on peak aerobic capacity. *Appl Physiol Nutr Metab* 2008; 33: 61-7
- ⁷³ Steven K. Malin, Robert Gerber, Stuart R. Chipkin, and Barry Braun. Independent and Combined Effects of Exercise Training and Metformin on Insulin Sensitivity in Individuals With Prediabetes. *Diabetes Care* January 2012 vol. 35 no. 1 131-136.
- ⁷⁴ Carrie G. Sharoff, Todd A. Hagobian, Steven K. Malin, Stuart R. Chipkin, Haiyan Yu, Michael F. Hirshman, Laurie J. Goodyear, and Barry Braun. Combining short-term metformin treatment and one bout of exercise does not increase insulin action in insulin-resistant individuals. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 298: E815–E823, 2010.
- ⁷⁵ Bu'Lock FA, Mott MG, Oakhill A, Martin RP. Left ventricular diastolic function after anthracycline chemotherapy in childhood: relation with systolic function, symptoms, and pathophysiology. *Br Heart J* 1995;73:340-50.
- ⁷⁶ Nohria A, Gerhard-Herman M, Creager MA, Hurley S, Mitra D, Ganz P. Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. *J Appl Physiol* 2006; 101: 545-8.
- ⁷⁷ Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA, et al.. Assessment of peripheral vascular endothelial function with finger arterial pulse wave amplitude. *Am Heart J* 2003; 146: 168-74.
- ⁷⁸ Wassermann K, Hansen JE, Sue DY, Whipp BJ 1987 Normal values. In: Wassermann K, Hansen JE, Sue DY, Whipp BJ, eds. *Principles of exercise testing and interpretation*. Philadelphia: Lea, Febiger; 72–85.

-
- ⁷⁹ Polinder S., Haagsma JA, Belt E., Layons RA, Erasmus V., Lund J., Van Beeck EF. Systematic review of studies measuring health-related quality of life of general injury population. *BMC Public Health* 2010;23,10:783.
- ⁸⁰ Lang et al. Recommendations for Chamber Quantification: A Report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, Developed in Conjunction with the European Association of Echocardiography, a Branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005;18:1440-1463.
- ⁸¹ Sherif F et al. Recommendation for the evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography. *Eur Journ of Echocard* 2009;10: 165-193.
- ⁸² Tatiana Kuznetsova, Lieven Herbots, Tom Richart, Jan D'hooge, Lutgarde Thijs, Robert H. Fagard, Marie-Christine Herregods and Jan A. Staessen. Left ventricular strain and strain rate in a general population. *European Heart Journal* (2008) 29, 2014–2023.
- ⁸³ Wong CY, O'Moore-Sullivan T, Fang ZY, Haluska B, Leano R, Marwick TH. Myocardial and vascular dysfunction and exercise capacity in the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2005;96:1686-91
- ⁸⁴ Ronald M. Witteles, MD, Michael B. Fowler, MB, FACC. Insulin-Resistant Cardiomyopathy *J Am Coll Cardiol* 2008;51:93–102
- ⁸⁵ Orchard TJ, Temprosa M, Goldberg R, Haffner S, Ratner R, Marcovina S, Fowler S; Diabetes Prevention Program Research Group. The effect of metformin and intensive lifestyle intervention on the metabolic syndrome: the Diabetes Prevention Program randomized trial. *Ann Intern Med* 2005;142:611-619.
- ⁸⁶ Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M; Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *New Engl J Med* 2001;344(18):1343-50.
- ⁸⁷ Bethel MA, Califf RM. Role of lifestyle and oral anti-diabetic agents to prevent type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2007;99(5):726-31.
- ⁸⁸ Dasgupta K, Grover SA, Da Costa D, Lowensteyn I, Yale JF, Rahme E. Impact of modified glucose target and exercise interventions on vascular risk factors. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006;72(1):53-60. Epub 2005 Oct 26.
- ⁸⁹ Hamman RF, Wing RR, Edelstein SL, Lachin JM, Bray GA, Delahanty L, Hoskin M, Kriska AM, Mayer-Davis EJ, Pi-Sunyer X, Regensteiner J, Venditti B, Wylie-Rosett J. Effect of weight loss with lifestyle intervention on risk of diabetes. *Diabetes Care* 2006;29(9):2102-7.
- ⁹⁰ Kriska AM, Edelstein SL, Hamman RF, Otto A, Bray GA, Mayer-Davis EJ, Wing RR, Horton ES, Haffner SM, Regensteiner JG. Physical activity in individuals at risk for diabetes: Diabetes Prevention Program. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38(5):826-32.
- ⁹¹ Manson JE, Spelsberg A. Primary prevention of non-insulin dependent diabetes mellitus. *Am J Prev Med* 1994;(3):172-84.
- ⁹² Anderson DC, Jr. Pharmacologic prevention or delay of type 2 diabetes mellitus. *Ann Pharmacother.* 2005;39(1):102-9.
- ⁹³ Lusignan S, Sismanidis C, Carey IM, DeWilde S, Richards N, Cook DG. Trends in the prevalence and management of diagnosed type 2 diabetes. *BMC Fam Pract.* 2005 Mar 22;6(1):13.

-
- ⁹⁴ Matthaei S, Stumvoll M, Kellerer M, Häring HU. Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance. *Endocr Rev.* 2000 Dec;21(6):585-618.
- ⁹⁵ Johnson ST, Robert C, Bell GJ, Bell RC, Lewanczuk RZ, Boulé NG. Acute effect of metformin on exercise capacity in active males. *Diabetes Obes Metab.* 2008 Sep;10(9):747-54. Epub 2007 Oct 26.
- ⁹⁶ Batandier C, Guigas B, Detaille D, El-Mir MY, Fontaine E, Rigoulet M, Leverve XM. The ROS production induced by a reverse electron flux at respirator-chain complex 1 is hampered by metformin. *J Bioenerg Biomembr.* 2006 Feb;38(1):33-42.
- ⁹⁷ El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E, Avéret N, Rigoulet M, Leverve X. Dimethylguanide inhibits cell respiration via indirect effect targeted on the respiratory chain complex. *J Biol Chem.* 2000 Jan 7;275(1):223-8.
- ⁹⁸ Guigas B, Detaille D, Chauvin C, Batandier C, De Oliveira F, Fontaine E, Leverve X. Metformin inhibits mitochondrial permeability transition and cell death: a pharmacological in vitro study. *Biochem J.* 2004 Sep 15;382(Pt 3):877-84.
- ⁹⁹ Leverve XM, Guigas B, Detaille D, Batandier C, Koceir EA, Chauvin C, Fontaine E, Wiernsperger NF. Mitochondrial metabolism and type 2 diabetes: a specific target of metformin. *Diabetes Metab.* 2003 Sep;29(4 Pt 2):6S88-94.
- ¹⁰⁰ Owen MR, Doran E, Halestrap AP. Evidence that metformin exerts its antidiabetic effect through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J.* 2000 Jun 15;348 Pt 3:607-14.
- ¹⁰¹ Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* 2006; 113: 1888-904
- ¹⁰² Müller MM, Griesmacher A. Markers of endothelial dysfunction. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38: 77-85
- ¹⁰³ Du X, Edelstein D, Obici S, Higham N, Zou MH, Brownlee M. Insulin resistance reduces arterial prostacyclin synthase and eNOS activities by increasing endothelial fatty acid oxidation. *J Clin Invest.* 2006;116:1071-80.
- ¹⁰⁴ Vitale C, Mercurio G, Cornoldi A, Fini M, Volterrani M, Rosano GM. Metformin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome. *J Intern Med.* 2005; 258(3):250-6
- ¹⁰⁵ Mercurio G, Saiu F, Deidda M, Mercurio S, Vitale C, Rosano GM. Effect of hormone therapy on exercise capacity in early postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 2007; 110: 780-7.
- ¹⁰⁶ Susheel Gundewar, M.D., John W. Calvert, Ph.D., Saurabh Jha, M.D., Iris Toedt-Pingel, M.D., Sang Yong Ji, M.D., Denise Nunez, M.D., Arun Ramachandran, M.D., Mauricio Anaya-Cisneros, M.D., Rong Tian, M.D., Ph.D., and David J. Lefer, Ph.D. Activation of AMPK by Metformin Improves Left Ventricular Function and Survival in Heart Failure. *Circ Res.* 2009 February 13; 104(3): 403–411.
- ¹⁰⁷ Xiao-Fang Wang, Jin-Ying Zhang, Ling Li, Xiao-Yan Zhao, Hai-Long Tao and Li Zhang. Metformin improves cardiac function in rats via activation of AMP-activated protein kinase. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* (2011) 38, 94–101.

-
- ¹⁰⁸ Sharoff CG, Hagobian TA, Malin SK, et al. Combining short-term metformin treatment and one bout of exercise does not increase insulin action in insulin-resistant individuals. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010;298:E815–E823
- ¹⁰⁹ Masugata H, Senda S, Goda F, Yoshihara Y, Yoshikawa K, Fujita N, Daikuhara H, Nakamura H, Taoka T, Kohno M. Left ventricular diastolic dysfunction as assessed by echocardiography in metabolic syndrome. *Hypertens Res* 2006;29:897-903.
- ¹¹⁰ de las Fuentes L, Brown AL, Mathews SJ, Waggoner AD, Soto PF, Gropler RJ, Dávila-Román VG. Metabolic syndrome is associated with abnormal left ventricular diastolic function independent of ventricular mass. *European Heart Journal* 2007;28:553-9.
- ¹¹¹ Charlotte Andersson, Peter Søgaard, Søren Hoffmann, Peter R Hansen, Allan Vaag, Atheline Major-Pedersen, Thomas Fritz Hansen, Jan Bech, Lars Køber, Christian Torp-Pedersen and Gunnar H Gislason. Metformin is associated with improved left ventricular diastolic function measured by tissue Doppler imaging in patients with diabetes. *European Journal of Endocrinology* (2010) 163 593–599
- ¹¹² Love-Osborne K, Sheeder J, Zeitler P. Addition of metformin to a lifestyle modification program in adolescents with insulin resistance. *J Pediatr* 2008;152:817–822
- ¹¹³ Snehalatha C, Mary S, Selvam S, et al. Changes in insulin secretion and insulin sensitivity in relation to the glycemic outcomes in subjects with impaired glucose tolerance in the Indian Diabetes Prevention Programme-1 (IDPP-1). *Diabetes Care* 2009;32:1796–1801