

David E. Kelley, Bret H. Goodpaster

Triglicerydy mięśni szkieletowych Zagadnienie związane z otyłością regionalną i insulinoopornością

**Skeletal muscle triglyceride
An aspect of regional adiposity and insulin resistance**

STRESZCZENIE

Najnowsze dane uzyskane z badań, w których stosowano cztery niezależne metody wskazują, że nadmierne spichrzanie triglicerydów w mięśniach szkieletowych wiąże się z insulinoopornością. Potencjalne mechanizmy tłumaczące ten związek obejmują zlokalizowane w mitochondriach zaburzenia metabolizmu kwasów tłuszczowych w przebiegu otyłości oraz cukrzycy typu 2. Szczególnie dominują zaburzenia ścieżki oksydacyjnej kwasów tłuszczowych w fazie poabsorbcyjnej, które prowadzą do zmniejszonego zużycia oraz nadmiernej estryfikacji oraz spichrzania lipidów w mięśniach szkieletowych. Te zaburzenia metabolizmu kwasów tłuszczowych na czczo mogą się wiązać z niedostosowaniem metabolizmu w insulinooporności, co nie ogranicza się do defektu metabolizmu glukozy w warunkach stymulacji insuliną. Dowody te więc wskazują, że zaburzenia metabolizmu kwasów tłuszczowych odgrywają rolę w procesie gromadzenia triglicerydów mięśni szkieletowych oraz w patogenezie insulinooporności. Zmniejszenie masy ciała poprzez ograniczenie podaży kalorii poprawia wrażliwość na insulinę, ale wpływ na metabolizm kwasów tłuszczowych jest mniej wyraźny. Niemniej jednak obniżenie masy ciała zmniejsza zawartość triglicerydów w mięśniach szkieletowych, być może przyczyniając się do poprawy działania insuliny obserwowanej w miarę odchu-

dzania. Zmiany w metabolizmie substratów w mięśni szkieletowym pozwalają wyjaśnić związek pomiędzy akumulacją triglicerydów w mięśni szkieletowym a insulinoopornością, co może prowadzić do zastosowania odpowiedniejszej terapii, mającej na celu poprawę metabolizmu glukozy oraz kwasów tłuszczowych w otyłości oraz w cukrzycy typu 2.

Słowa kluczowe: spichrzanie triglicerydów, insulinooporność, otyłość regionalna

ABSTRACT

Recent evidence derived from four independent methods indicates that an excess triglyceride storage within skeletal muscle is linked to insulin resistance. Potential mechanisms for this association include apparent defects in fatty acid metabolism that are centered at the mitochondria in obesity and in type 2 diabetes. Specifically, defects in the pathways for fatty acid oxidation during postabsorptive conditions are prominent, leading to diminished use of fatty acids and increased esterification and storage of lipid within skeletal muscle. These impairments in fatty acid metabolism during fasting conditions may be related to a metabolic inflexibility in insulin resistance that is not limited to defects in glucose metabolism during insulin-stimulated conditions. Thus, there is substantial evidence implicating perturbations in fatty acid metabolism during accumulation of skeletal muscle triglyceride and in the pathogenesis of insulin resistance. Weight loss by caloric restriction improves insulin sensitivity, but the effects on fatty acid metabolism are less conspicuous. Nevertheless, weight loss decreases the content of triglyceride within skeletal muscle, perhaps

Przedrukowano za zgodą z: *Diabetes Care*, 2001, 24, 5, 933-941
Copyright © 2001 by *American Diabetes Association*, Inc.
American Diabetes Association nie odpowiada za poprawność tłumaczenia z języka angielskiego.

Diabetologia Praktyczna 2001, tom 2, nr 4, 255-266
Tłumaczenie: dr med. Anna Korzon-Burakowska
Wydanie polskie: Via Medica

contributing to the improvement in insulin action with weight loss. Alterations in skeletal muscle substrate metabolism provide insight into the link between skeletal muscle triglyceride accumulation and insulin resistance, and they may lead to more appropriate therapies to improve glucose and fatty acid metabolism in obesity and in type 2 diabetes.

Key words: triglyceride storage, insulin resistance, regional obesity

U prawie wszystkich chorych na cukrzycę typu 2 stwierdza się znaczną insulinooporność, większość z nich jest otyłych. W poniższym artykule przedstawiono mechanizmy, które mogą się przyczyniać do związku pomiędzy insulinoopornością a otyłością ze szczególnym uwzględnieniem: 1) znanych i nowszych koncepcji rozkładu tkanki tłuszczowej i 2) zawartości triglicerydów w mięśniach szkieletowych. Omawiano również fizjologiczne i komórkowe mechanizmy prowadzące do nadmiernego gromadzenia lipidów w mięśniach szkieletowych. Zgodnie z hipotezą przedstawioną w artykule nagromadzenie triglicerydów w tkance stanowi najważniejszy czynnik odpowiedzialny za oporność na insulinę w mięśniach szkieletowych i występuje w związku ze zmniejszoną zależnością metabolizmu od oksydacji wolnych kwasów tłuszczowych w fazie poabsorbcyjnej.

Rozkład brzusznej tkanki tłuszczowej a insulinooporność

Otyłość, nawet jeśli nie towarzyszy jej cukrzyca, wiąże się w mięśniach szkieletowych z metabolizmem glukozy typowym dla insulinooporności. Wiele informacji na temat związku pomiędzy otyłością a insulinoopornością uzyskano z badań dotyczących rozkładu tkanki tłuszczowej. Uważa się, że nagromadzenie sieciowej i krezkowej tkanki tłuszczowej, zwane otyłością trzewną ściśle wiąże się zarówno z insulinoopornością w mięśniach szkieletowych [1], jak i z dyslipidemią [2] oraz z podwyższonym ryzykiem wystąpienia nadciśnienia tętniczego i nietolerancji glukozy [1, 3, 4]. Na przykład Banerji i wsp. [5] stwierdzili, że zmienność dotycząca ilości trzewnej tkanki tłuszczowej tłumaczy w znacznym stopniu międzypersonalną zmienność zjawiska insulinooporności w grupie Amerykanów pochodzenia afrykańskiego chorych na cukrzycę typu 2. U niektórych chorych z tej grupy rozpoznawano podtyp cukrzycy typu 2 charakteryzujący się wrażliwością na insulinę.

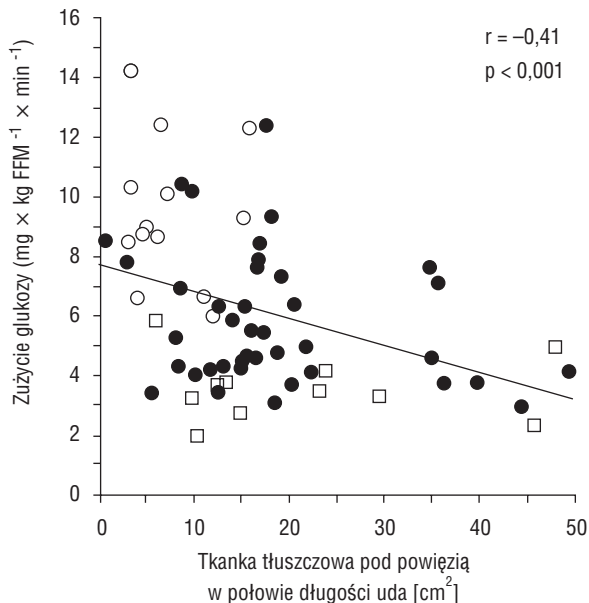
Na podstawie wyników przeprowadzonego ostatnio badania, w którym oceniano insulinooporność

liwość u chorych, którzy zmniejszyli masę ciała, stwierdzono, że u osób otyłych bez cukrzycy zmniejszenie ilości trzewnej tkanki tłuszczowej stanowiło parametr pozwalający najlepiej przewidywać poprawę wrażliwości na insulinę po odchudzeniu [6]. Niemniej jednak pojawiające się doniesienia sugerują, że inne aspekty otyłości REGIONALNEJ (większe nagromadzenie tkanki tłuszczowej w pewnych okolicach ciała) również odgrywają rolę w istniejącym związku pomiędzy otyłością a insulinoopornością.

W cukrzycy typu 2 częściej stwierdza się stłuszczenie wątroby (zwiększone gromadzenie lipidów w wątrobie), co prawdopodobnie wiąże się z otyłością, zwłaszcza trzewną. Najnowsze badania kliniczne u chorych na cukrzycę typu 2 leczonych insuliną wskazują, że zawartość triglicerydów w wątrobie stanowi silny czynnik determinujący wątrobową oporność na insulinę [7–9]. Napływ kwasów tłuszczowych do wątroby może wskazywać na szybkość wątrobowej produkcji glukozy [10]. Model metabolizmu kwasów tłuszczowych w wątrobie oraz stężenie kwasów tłuszczowych w hepatocytach stanowią ważne zagadnienia wymagające dalszych badań, które pozwolą lepiej zrozumieć związek pomiędzy rozkładem tkanki tłuszczowej a insulinoopornością u pacjentów z otyłością i cukrzycą typu 2.

Tkanka tłuszczowa kończyny dolnej a insulinooporność

W kończynach dolnych gromadzi się znacząca ilość tkanki tłuszczowej, jednak podskórną tkankę tłuszczową nóg ogólnie uważa się za słaby wskaźnik insulinooporności [11]. W jednym z ostatnich badań autorów Goodpaster i wsp. [12] posłużyli się badaniem tomokomputerowym w celu dokonania pomiarów ilości i rozkładu tkanki tłuszczowej uda. Badacze stosowali nowe anatomiczne kryteria do podziału tkanki tłuszczowej na tkankę tłuszczową położoną powyżej powięzi szerokiej (zwaną podskórną tkanką tłuszczową) oraz zlokalizowaną poniżej tej powięzi (zwaną podpowięziową tkanką tłuszczową). Ich obserwacje potwierdzają wcześniejsze spostrzeżenia, że podskórna tkanka tłuszczowa kończyn dolnych — chociaż jej objętość znacznie zwiększa się w otyłości i nawet u osób szczupłych stanowi ponad 90% tkanki tłuszczowej uda — nie jest skorelowana z poziomem stymulowanego insuliną metabolizmu glukozy. Poczyniono natomiast liczne nowe obserwacje, dotyczące tkanki tłuszczowej poniżej powięzi mięśniowej. Zmienność w ilości tkanki tłuszczowej zlokalizowanej poniżej powięzi korelowała z insulinoopornością (ryc. 1). Ponadto obecność tkanki tłuszczowej rozproszonej pomiędzy włóknami mięśniowymi, którą

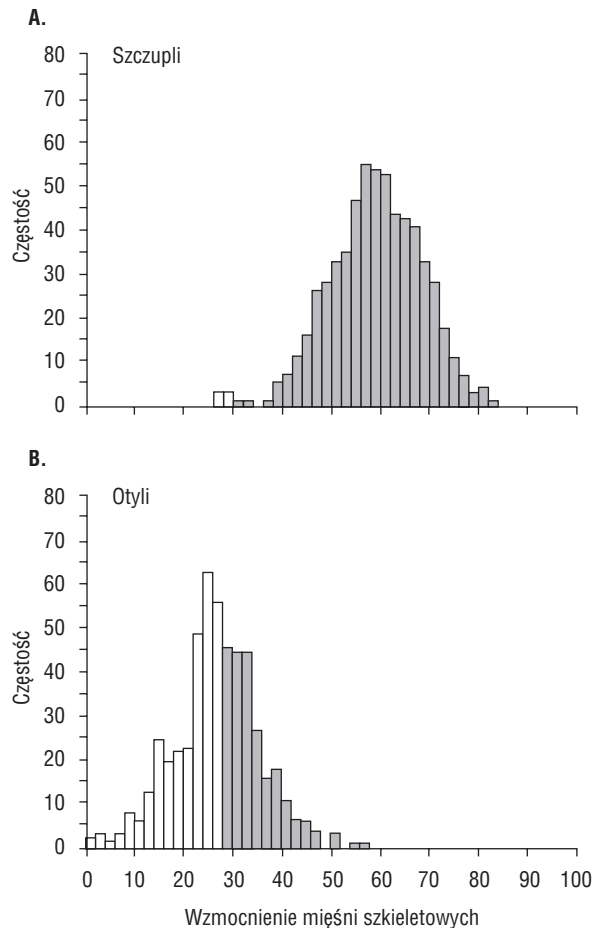


Rycina 1. Związek tkanki tłuszczowej zlokalizowanej poniżej powięzi szerokiej w połowie długości uda u osób szczupłych z prawidłową tolerancją glukozy (GT, *glucose-tolerant*), osób otyłych z prawidłowym metabolizmem glukozy oraz otyłych chorych na cukrzycę typu 2 (n = 68); (○) szczupli; (●) otyli; (□) otyli chorzy na cukrzycę typu 2

można uwidocznic za pomocą tomografii komputerowej, również była skorelowana z insulinoopornością. Ilość tych złogów tłuszczowych zlokalizowanych poniżej powięzi oraz w obrębie mięśni była istotnie mniejsza niż ilość tkanki tłuszczowej zlokalizowanej podskórnie, stanowiącej około 10% tkanki tłuszczowej kończyny dolnej. Powyższe obserwacje sugerują, że w obrębie kończyny dolnej lokalizacja tkanki tłuszczowej stanowi kluczowy czynnik determinujący związek pomiędzy insulinoopornością a otyłością. Być może jest to zjawisko analogiczne do rozmieszczenia brzusznej tkanki tłuszczowej i jego związku z insulinoopornością.

Triglicerydy mięśni szkieletowych a insulinooporność

W badaniu dotyczącym rozkładu tkanki tłuszczowej w obrębie uda, przeprowadzonym przez Goodpastera i wsp. [12] stwierdzono również, że skład mięśni szkieletowych u otyłych chorych na cukrzycę typu 2 jest zmieniony. Skład ten, oceniony za pomocą tomografii komputerowej i wyrażony na podstawie rozkładu jednostek pochłaniania w badaniu tomokomputerowym mięśnia, był różny u otyłych chorych na cukrzycę typu 2 i u osób szczupłych (ryc. 2). Jednostki pochłaniania są jednostkami miary stosowanymi w tomografii komputerowej w celu oznaczenia gęstości. Wartość referencyjną dla tych



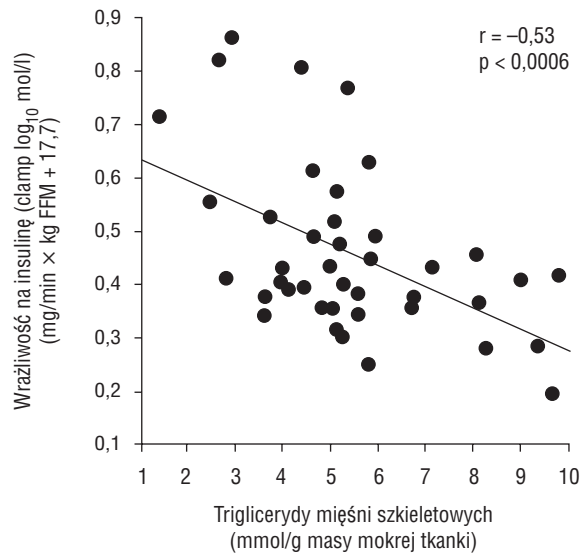
Rycina 2. Histogramy rozkładu i częstości pikseli w różnych mięśniach szkieletowych (0–100 HU) w reprezentatywnej grupie osób szczupłych (A) i otyłych (B). Jasne słupki przedstawiają częstość pikseli 0–29 HU jako „mięsień o niskiej gęstości” (tj. ≥ 2 SD poniżej średniej wartości wzmocnienia dla prawidłowego nieotłuszczonego mięśnia szkieletowego); ciemne słupki oznaczają częstość pikseli 30–100 HU jako „mięsień o prawidłowej gęstości”. U osób otyłych więcej mięśni odpowiada mięśniom o niskiej gęstości. Na podstawie *Diabetes* 1999; 48: 839–847

jednostek stanowi zdolność wody do pochłaniania wysyłanego promieniowania. Te obserwacje potwierdzają dane z wcześniejszych badań, w których mięśniowe jednostki pochłaniania były niższe u pacjentów otyłych, zwłaszcza tych chorujących na cukrzycę typu 2 [13, 14]. Najnowsze prace, w których korzystano z fantomów chemicznych (sztucznych „kończyn” o znanej zawartości tłuszczów) oraz biochemiczne badania tkanek (z zastosowaniem próbek z biopsji mięśni) potwierdzają obserwacje, że zwiększona ilość lipidów stanowi kluczowy czynnik determinujący zmniejszone pochłanianie promieniowania w mięśniach szkieletowych [15]. Wnioski te są interesujące z powodu potencjalnego znaczenia metabolicznego zmienionego składu mięśni.

Stwierdzono, że zmniejszone pochłanianie promieniowania przez mięśnie w istotnym stopniu koreluje z insulinoopornością, nawet po skorygowaniu względem ilości trzewnej tkanki tłuszczowej lub całkowitej otyłości [13]. Faktycznie, w grupie 40 osób bez cukrzycy z BMI > 30 kg/m² pochłanianie promieniowania przez mięśnie stanowiło najważniejszy czynnik korelujący z insulinoopornością. Ponadto wykazano, że osłabienie promieniowania przez mięśnie ujemnie koreluje ze sprawnością w warunkach tlenowych [13] oraz z wydolnością enzymów oksydacyjnych mięśni szkieletowych [16].

Kolejną rozwiniętą ostatnio metodą, stosowaną w badaniach nad znaczeniem metabolicznym zawartości lipidów w mięśniach, jest spektroskopia rezonansu magnetycznego (MRS, *magnetic resonance spectroscopy*). Poza nieinwazyjnym charakterem MRS zaletą tej metody jest zdolność rozróżniania sygnałów pochodzących z protonów lipidów zawartych we włóknach mięśniowych od lipidów zlokalizowanych poza tymi włóknami [17]. Kolejne badania oceniające tę metodę wykazały, że protonową spektroskopię rezonansu magnetycznego mięśni u zwierząt i ludzi można stosować do oceny lipidów wewnątrzkomórkowych [18]. Perseghin i wsp. [19] stosowali tę metodę i stwierdzili, że zawartość lipidów we włóknach mięśniowych korelowała z nasileniem insulinooporności. Ponadto zaobserwowano również, że zawartość ta była większa u krewnych pierwszego stopnia pacjentów chorych na cukrzycę typu 2 i pozostawała w związku z ekspresją insulinooporności w tej grupie wysokiego ryzyka [19].

Ustalono również istnienie związku pomiędzy insulinoopornością oraz zawartością triglicerydów mierzonych w próbkach pochodzących z biopsji mięśni ludzkich. Pan i wsp. [20] określili zawartość triglicerydów w mięśniu obszernym bocznym u 38 Indian Pima bez cukrzycy. Indianie Pima stanowią grupę etniczną cechującą się szczególną predyspozycją do otyłości i cukrzycy typu 2. Wrażliwość na insulinę zmierzona za pomocą hiperinsulinowo-euglikemicznej klamry metabolicznej odwrotnie korelowała z zawartością triglicerydów w mięśniach szkieletowych (ryc. 3). Ponadto związek pomiędzy insulinoopornością a triglicerydami mięśni był niezależny od całkowitej otyłości. W badaniach na zwierzętach stwierdzano wcześniej, że dieta bogata w tłuszcze powodowała powstanie insulinooporności w mięśniach szkieletowych, a zjawisko to wiązano z zawartością tłuszczu w mięśniu [1]. Zgodnie z tą obserwacją selektywne pozabawienie mięśni triglicerydów poprzez podawanie leptyny powodowało odwrócenie insulinooporności u zwierząt [22].



Rycina 3. Związek pomiędzy zawartością triglicerydów w mięśniach szkieletowych a wrażliwością na insulinę. Na podstawie *Diabetes* 1997; 46: 983–988

Kolejną metodą, pozwalającą na bezpośrednią ocenę zawartości lipidów we włóknach mięśniowych, jest znakowanie histochemiczne, które dostarcza wizualnej informacji na temat dystrybucji lipidów w miocytach. Philips i wsp. [23] stosowali neutralny znacznik lipidów oraz półilościowe metody histologiczne pomiaru zawartości lipidów w mięśniach wykorzystując próbki uzyskane drogą przezskórnej biopsji mięśnia obszernego bocznego od 27 kobiet niechorujących na cukrzycę. Neutralne znakowanie lipidów w mięśniach szkieletowych korelowało z obniżoną aktywacją przez insulinę syntetazy glikogenu, enzymu znacznikowego dla działania insuliny, który uważa się również za enzym ograniczający tempo spichrzania glukozy. Stosując metody obrazowe, pozwalające na dokładniejszą ocenę ilościową preparatów mięśnia obszernego bocznego znakowanych barwnikiem OIL red O, Godpaster i wsp. [24] stwierdzili, że zawartość triglicerydów w miocytach była szczególnie podwyższona u otyłych chorych na cukrzycę typu 2 i korelowała z insulinoopornością. Tak więc, podsumowując, stosowano cztery odrębne metody, które potwierdziły obserwację, że zawartość triglicerydów w mięśniach szkieletowych jest podwyższona u osób otyłych i chorujących na cukrzycę typu 2 oraz że koreluje ona z insulinoopornością.

Jedynym zastrzeżeniem odnoszącym się do powyższych obserwacji jest fakt, że podwyższenie zawartości triglicerydów w mięśniach nie w każdym przypadku jest związane z insulinoopornością. Stwier-

dzono, że wysiłek fizyczny zwiększa zawartość triglicerydów w mięśniach [25, 26], a długotrwałe uprawianie ćwiczeń zwiększa wrażliwość na insulinę [27, 28], jak również zdolność oksydacji kwasów tłuszczowych [29]. Badania fizjologii wysiłku fizycznego wskazują, że triglicerydy mięśni szkieletowych mogą stanowić istotny element mieszaniny substratów ulegających oksydacji w mięśniu w trakcie wysiłku fizycznego [30, 32]. Ponadto włókna typu 1 mięśni szkieletowych, które mają zwiększoną pojemność enzymów oksydacyjnych, mogą się cechować zwiększoną wrażliwością na insulinę, większą zdolnością wychwytu kwasów tłuszczowych oraz większymi zasobami triglicerydów [33]. Tych obserwacji nie należy interpretować jako sprzecznych z obserwacjami cytowanymi wcześniej, odnoszącymi się do związku pomiędzy triglicerydami mięśni a insulinoopornością u otyłych chorych na cukrzycę typu 2. Dane te raczej wskazują na konieczność powiązania zawartości triglicerydów w mięśniach ze zdolnością mięśni do metabolizowania kwasów tłuszczowych. Triglicerydy mięśniowe mogą nie powodować niekorzystnych konsekwencji metabolicznych w mięśniu, mającym zdolność do skutecznej utylizacji lipidów. Być może nadmierna zawartość triglicerydów w mięśniu, jest po prostu konsekwencją występowania innych metabolitów lipidowych, takich jak tłuszczowy acylo-CoA, o których wiadomo, że decydują o insulinooporności [34]. Jest także możliwe, że okresowe wyczerpywanie i uzupełnianie triglicerydów w mięśniach, na przykład podczas regularnego wysiłku fizycznego, nie wiąże się z insulinoopornością. Jednak niemożność okresowej utraty triglicerydów z mięśni u osób prowadzących głównie siedzący tryb życia wiąże się z insulinoopornością.

Interakcja pomiędzy glukozą a metabolizmem kwasów tłuszczowych w cukrzycy typu 2

Andres i wsp. [35] już wiele lat temu wykazali w swych pracach dotyczących ludzkiej fizjologii, że kwasy tłuszczowe w surowicy u osób zdrowych stanowią ważny substrat dla mięśni szkieletowych, a ich znaczenie zostało potwierdzone w nowszych badaniach klinicznych [36–38]. W warunkach poabsorbcyjnych, na przykład na czczo (niespożywanie pokarmów przez całą noc), w mięśniach szkieletowych stwierdza się wysoką frakcjonowaną ekstrakcję kwasów tłuszczowych surowicy, a wytwarzanie energii opiera się głównie na oksydacji lipidów. Sugerowano również, że wychwyt kwasów tłuszczowych przez mięśnie szkieletowe może być procesem podlegającym saturacji, regulowanym przez białka

wiążące kwasy tłuszczowe (FABP, *fatty acid-binding protein*) [39]. Tak więc mięśnie szkieletowe poza tym, że odgrywają istotną rolę jako miejsce stymulowanego insuliną zużycia glukozy, mają również istotne znaczenie w układowej utylizacji kwasów tłuszczowych, zaznaczone szczególnie na czczo.

Zdolność mięśni szkieletowych do utylizacji substratów lipidowych lub węglowodanowych, jak również zdolność kompetycji pomiędzy kwasami tłuszczowymi a glukozą stanowiły przedmiot zainteresowania badaczy zajmujących się insulinoopornością [37, 38, 40–45]. Potencjalne znaczenie cyklu glukoza-kwasy tłuszczowe, pierwotnie postulowanego przez Randle'a i wsp. [46] polega na tym, że większa dostępność lipidów może kolidować z metabolizmem glukozy w mięśniach i przyczynić się do insulinooporności stwierdzanej u otyłych chorych na cukrzycę typu 2. Prace licznych badaczy wydają się potwierdzać koncepcję, że stymulowany insuliną metabolizm glukozy ulega zaburzeniu przez podwyższony poziom kwasów tłuszczowych (FFA, *free fatty acid*) [40, 43, 45, 47]. Dzięki najnowszym badaniom rozpoczęto opisywanie pozareceptorowych mechanizmów sygnałowych, które mogłyby się przyczynić do wywoływanej przez kwasy tłuszczowe insulinooporności. W wielu badaniach donoszono, że wpływ na mechanizm sygnałowy odbywa się przez szlak kinazy proteinowej C [48–52], należący do szlaków sygnałowych insuliny, które oddziałują na stymulowany insuliną transport glukozy.

Pojawiła się jednak równoległa hipoteza sugerująca, że mechanizm kompetycji substratów mógł działać nie tylko w kierunku indukującego lipidy opornego na insulinę metabolizmu glukozy, ale że dówóz glukozy hamuje oksydację lipidów. Dane potwierdzające tę teorię pochodzą również z prac Kelley i Mandarino [53], w których badano chorych na cukrzycę typu 2 w warunkach hiperglikemii na czczo. Stosując technikę *limb-balance*, stwierdzili oni, że wskaźnik oddechowy (RQ, *respiratory quotient*) w kończynie dolnej był podwyższony (0,92) u chorych na cukrzycę typu 2, co wskazuje na zwiększoną oksydację glukozy i znacznie zmniejszoną zależność od oksydacji kwasów tłuszczowych. Obniżenie glikemii poprzez wlew insuliny w niskiej dawce, którego celem była supresja wątrobowego wyrzutu glukozy u chorych na cukrzycę typu 2, prowadziło do zmniejszenia oksydacji glukozy w kończynie dolnej i do zwiększenia oksydacji tłuszczów. U osób zdrowych i szczupłych badania metodą klamry hiperglikemicznej, przeprowadzone w warunkach supresji insuliny do poziomu wydzielania podstawowego, również wykazały wzrost RQ podobny do opisywanego u cho-

rych na cukrzycę typu 2 [54]. Te efekty hiperglikemii były wyraźniejsze u chorych otyłych [55]. Kelley i wsp. [43] oraz Kelly i Simoneau [44] stwierdzili, że wychwyty kwasów tłuszczowych przez mięśnie szkieletowe był obniżony u otyłych chorych na cukrzycę typu 2 [53] w warunkach hiperglikemii na czczo, przy niższej frakcjonowanej ekstrakcji kończyny dolnej. Nieco później Sidossis i wsp. [38] potwierdzili te obserwacje, wskazując na zahamowanie wejścia kwasów tłuszczowych do mitochondrium jako mechanizm, poprzez który insulina oraz hiperglikemia hamują oksydację lipidów. Cortez i wsp. [56] oraz Torgan i wsp. [57] obserwowali zwiększoną oksydację glukozy w mięśniach szkieletowych otyłych szczurów z insulinoopornością. Dane z tych badań sugerują, że hiperglikemia zaburza prawidłową zależność od oksydacji kwasów tłuszczowych w mięśniach szkieletowych w warunkach na czczo. Obserwacja ta ma potencjalne znaczenie dla patogenezy akumulacji lipidów w mięśniach szkieletowych i dla otyłości w ogóle.

U chorych na cukrzycę typu 2 stwierdza się obniżoną wydajność wychwyty wolnych kwasów tłuszczowych przez mięśnie szkieletowe [36, 44, 53]. Obserwacje te poczyniono, stosując metodę *limb-balance* [44, 58], a ostatnio metodę emisyjnej tomografii pozytronowej mięśni kończyny dolnej osób z upośledzoną tolerancją glukozy [59]. Jednak obniżona ekstrakcja frakcjonowana wolnych kwasów tłuszczowych surowicy nie wydaje się jedynym mechanizmem limitującym oksydację tłuszczów. Ta obserwacja sugeruje, że wewnętrzne czynniki związane z samym mięśniem mogą się przyczyniać do obniżonej oksydacji kwasów tłuszczowych i zwiększonego spichrzenia tłuszczu w mięśniach.

Mechanizmy akumulacji triglicerydów w mięśniach szkieletowych u chorych na cukrzycę typu 2

Stężenie wolnych kwasów tłuszczowych w surowicy odgrywa ważną rolę w określaniu szybkości ich wychwyty przez mięśnie szkieletowe [60]. Niemniej jednak dostępność wolnych kwasów tłuszczowych surowicy nie jest jedynym czynnikiem określającym ich wychwyty przez tkanki. Jednym z potencjalnych procesów regulujących metabolizm kwasów tłuszczowych w mięśniach jest ich transport. Opisano liczne białka, które mogą być transporterami kwasów tłuszczowych [60], takie jak FABP, translokaza kwasów tłuszczowych oraz białko transportujące kwasy tłuszczowe, ale ich rola w regulacji metabolizmu tłuszczów jest niejasna. W badaniach ludzkich mięśni szkieletowych u osób otyłych nie stwierdzono zmniejszenia zawartości FABP ani w cytozolu, ani

w sarkolemie [61]. Jednak Blaak i wsp. [62] obserwowali obniżenie FABP w mięśniach chorych na cukrzycę. Dalsze badania mogą się przyczynić do odkrycia niezidentyfikowanych mechanizmów, poprzez które białka transportowe przyczyniają się do zwiększonego spichrzenia triglicerydów w mięśniach szkieletowych u otyłych chorych na cukrzycę typu 2.

W warunkach poabsorbcyjnych około 30% przepływu kwasów tłuszczowych w surowicy podlega oksydacji, a pozostałych 70% podlega przemianie do triglicerydów, wskazując na istnienie fizjologicznej rezerwy przekraczającej natychmiastowe zapotrzebowanie tkanek na substraty oksydacji. Równowaga pomiędzy oksydacją oraz restryfikacją w mięśniach ma zasadnicze znaczenie dla regulacji spichrzenia kwasów tłuszczowych w tkankach. Po transporcie w sarkolemie przez FABP, a przed oksydacją, kwasy tłuszczowe o długich łańcuchach muszą ulec aktywacji do acylo-CoA o długim łańcuchu, następnie translokacji do mitochondrium przy udziale kompleksu enzymów, transferazy palmitynianu karnityny (CPT, *carnitine palmitoyl transferase*) I i II. Aktywność CPT I jest uważana za kluczowy etap w regulacji oksydacji kwasów tłuszczowych w mięśniach [63]. Mięśniowa izoforma CPT I jest wysoce wrażliwa na allosteryczne hamowanie przez malonylo-CoA, prekursor syntezy wolnych kwasów tłuszczowych [63]. Insulina i glukoza powodują zwiększenie zawartości malonylo-CoA w mięśniach, co sugeruje, że hamują one oksydację lipidów [64]. W modelach zwierzęcych insulinooporności Ruderman i wsp. [34] zaobserwowali zwiększoną zawartość malonylo-CoA w mięśniach w fazie poabsorbcyjnej, co odpowiada zahamowaniu oksydacji wolnych kwasów tłuszczowych. Simoneau i wsp. [61] stwierdzili obniżenie aktywności CPT w mięśniach szkieletowych otyłych i insulinoopornych ochotników, u których w kończynie dolnej obserwowano zmniejszenie oksydacji tłuszczów [37]. To obniżenie aktywności CPT było proporcjonalne do całkowitej redukcji aktywności syntetazy cytrynianu, oksydazy cytochromu C oraz dehydrogenazy hydroksyacylowej — enzymów, odpowiednio, cyklu kwasów trójkarboksylowych, transportu elektronów i β -oksydacji [61]. Ponadto obniżona aktywność enzymów oksydacji wiązała się z insulinoopornością i cukrzycą typu 2 [65–67]. Tak więc obniżenie aktywności CPT może odzwierciedlać zmniejszoną pulę mitochondrialną, której wynikiem jest zmniejszona wydolność oksydacji lipidów. Dodatkową informacją odnoszącą się do metabolizmu mitochondrium w mięśniach szkieletowych jest stwierdzenie zwiększonej puli niesprężonej proteiny 2 (UCP2, *uncoupling protein 2*) u otyłych pacjentów

i związku pomiędzy mniejszą szybkością oksydacji kwasów tłuszczowych a pulą UCP2 [68].

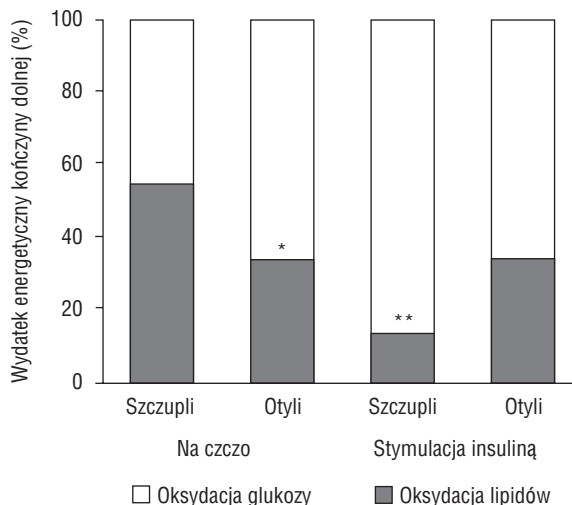
Ujmując zagadnienie całościowo, biochemia mięśnia szkieletowego u otyłych chorych na cukrzycę typu 2 sugeruje zaburzenia, które koncentrują się w mitochondrium i powodują, że metabolizm kwasów tłuszczowych ulega przesunięciu raczej w kierunku estyfikacji i spichrzania niż oksydacji.

Zaburzona utylizacja kwasów tłuszczowych w warunkach insulinooporności: brak adaptacji metabolicznej

Zdrowy mięsień szkieletowy ma dużą zdolność przystosowania metabolizmu [69] i przedstawia się z warunków dominującej oksydacji lipidów na czczo, której towarzyszy intensywny wychwyty kwasów tłuszczowych [35], do warunków zwiększonego wychwyty, oksydacji i spichrzania glukozy przy stymulacji insuliną oraz do zahamowania oksydacji tłuszczów [58]. Terminem insulinooporność określa się obniżoną stymulację metabolizmu glukozy przez insulinę. Dodatkowym aspektem insulinooporności wydaje się brak zdolności do supresji lipolizy i oksydacji lipidów. U osób otyłych i chorych na cukrzycę typu 2 w warunkach stymulacji insuliną stwierdza się większą oksydację lipidów [41] przy mniejszej szybkości oksydacji tłuszczów w warunkach na czczo. Te obserwacje są właściwie zgodne, biorąc pod uwagę fakt, że zasadniczą cechą metabolizmu mięśnia szkieletowego jest jego zdolność do korzystania z różnych substratów energetycznych. Zdolność ta może zanikać w warunkach insulinooporności.

Hipotezę utraty zdolności przystosowawczych metabolizmu zilustrowano w przeprowadzonych ostatnio badaniach z zastosowaniem techniki *limb-balance* w celu oceny tempa wychwyty i oksydacji substratów [37]. Jak przedstawiono to na rycinie 4, u osób otyłych stwierdzano mniejszą szybkość oksydacji, jednak podczas wlewu insuliny poziom oksydacji lipidów w mięśniach był większy niż u osób szczupłych.

U osób szczupłych stwierdzono zdolność do przestawiania metabolizmu z zależności od oksydacji lipidów na czczo do zależności od oksydacji glukozy podczas wlewu insuliny. Natomiast w przypadku osób otyłych nie obserwowano zdolności do zmiany substratów w zależności od warunków, czyli wykazano brak zdolności przystosowawczych metabolizmu. Poziom oksydacji lipidów nie zwiększa się wyraźnie w żadnych warunkach fizjologicznych; stanowi raczej element niedostosowanej odpowiedzi na insulinę lub głodzenie w procesie modulowania oksydacji substratów. Obniżona zdolność do zwiększania oksydacji lipidów na czczo u osób otyłych po-



Rycina 4. Udział oksydacji lipidów i glukozy w wydatkowaniu energii spoczynkowej w kończynie dolnej. Osoby otyłe uzyskiwały stosunkowo mniej energii z oksydacji lipidów w warunkach podstawowych (* $p < 0,01$). U osób szczupłych stwierdzano mniejszą supresję oksydacji lipidów w warunkach stymulacji insuliną (** $p < 0,01$). Na podstawie Am. J. Physiol. 1999; 277: E1130–E1141

zwala również przewidywać stopień nasilenia insulinooporności. Tak więc niższy poziom oksydacji kwasów tłuszczowych w warunkach głodzenia prawdopodobnie stanowi kluczowy mechanizm prowadzący do nadmiernego gromadzenia lipidów w mięśniach szkieletowych, co z kolei przyczynia się do metabolizmu glukozy typowego dla insulinooporności w wyniku kompetycji substratów oraz pod wpływem działania innych mechanizmów [70].

Na podstawie tych obserwacji autorzy sugerują, że mechanizmy nadmiernego gromadzenia lipidów w miocytach w otyłości oraz cukrzycy typu 2 wiążą się z zaburzeniami oksydacji kwasów tłuszczowych. Przyjęto, że to raczej obniżony poziom oksydacji kwasów tłuszczowych, a nie ich zwiększony wychwyty, przyczynia się do akumulacji lipidów. Biochemicznym mechanizmem odpowiedzialnym za niższy poziom oksydacji kwasów tłuszczowych może być obniżone przechodzenie acylo-CoA do mitochondrium będące zjawiskiem wtórnym do obniżenia aktywności CPT i potencjalnie związanym ze zwiększonym stężeniem malonylo-CoA.

Wpływ zmniejszenia masy ciała na metabolizm lipidów w mięśniach szkieletowych

Zmniejszenie masy ciała może stanowić bardzo skuteczny sposób terapii w przypadku chorych na cukrzycę typu 2, u których występują inne czynniki

ryzika schorzeń układu sercowo-naczyniowego i jest to zalecany sposób leczenia tych pacjentów. Zmniejszenie masy ciała może również odgrywać rolę w prewencji cukrzycy typu 2 [71, 72]. U otyłych chorych na cukrzycę typu 2 zmniejszenie masy ciała powoduje redukcję wątrobowej produkcji glukozy [73, 74], insulinooporności [73–76], hiperinsulinemii na czczo [74–76] oraz może wpłynąć na poprawę wyrównania glikemii [73–76]. Odchudzanie u chorych na cukrzycę typu 2 wiąże się również z obniżeniem ciśnienia tętniczego krwi oraz poprawą profilu lipidowego [77]. Te korzystne zmiany obserwuje się już przy niewielkim zmniejszeniu masy ciała wynoszącym 5–10% [74, 78, 79]. Ponadto wiadomo, że zapobieganie otyłości u naczelnych poprzez długofalowe ograniczenie podaży kalorii ogranicza rozwój insulinooporności [80].

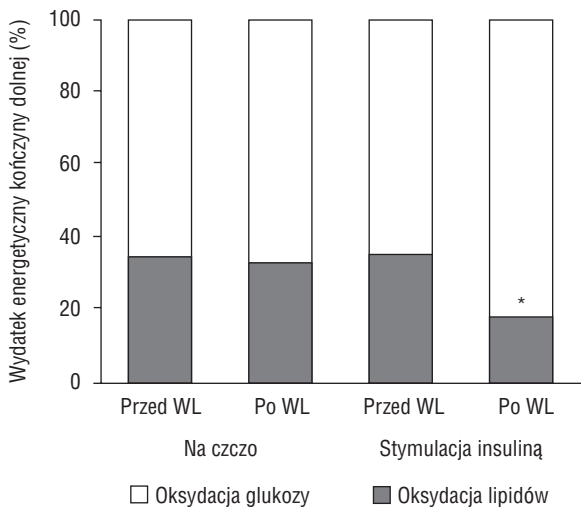
Dotychczas nie ma wystarczających danych na temat wpływu masy ciała na metabolizm kwasów tłuszczowych w mięśniach szkieletowych i akumulację tłuszczów w mięśniu. Tak więc istotnym zagadnieniem wymagającym rozważenia jest pytanie, czy zaburzenia szlaku utylizacji kwasów tłuszczowych w mięśniu szkieletowym stanowią defekt pierwotny, czy też wtórny do rozwoju otyłości. Kwestia ta jest trudna do rozstrzygnięcia na podstawie badań porównawczych osób szczupłych i otyłych. W jednym z prospektywnych badań klinicznych wykazano, że niższy poziom oksydacji lipidów stanowi czynnik predysponujący do większego przyrostu masy ciała [81], a w równoległe prowadzonych pracach stwierdzono, że aktywność enzymów mięśni szkieletowych wiąże się z zaburzeniami oksydacji lipidów [82, 83]. Wykazano także, że zmniejszenie zależności od oksydacji lipidów stanowi czynnik ryzyka ponownego wzrostu masy ciała po odchudzeniu [84]. Powyższe dane pozwalają przypuszczać, że potencjalne zaburzenia zdolności do oksydacji lipidów mogą stanowić pierwotny defekt w otyłości. Zmniejszenie masy ciała może istotnie poprawić zależny od insuliny metabolizm glukozy w mięśniu szkieletowym. W sytuacji, kiedy u chorego stwierdza się istotną nabytą lub wtórną komponentę związanego z otyłością metabolizmu glukozy typowego dla insulinooporności, należy ocenić, czy zmniejszenie masy ciała może wpłynąć na metabolizm kwasów tłuszczowych w mięśniu szkieletowym oraz na zawartość tłuszczu w mięśniu.

Goodpaster i wsp. [6, 24], Kelley i wsp. [37] oraz Simoneau i wsp. [61] ocenili efekt zmniejszenia masy ciała w grupie otyłych mężczyzn i kobiet. W tym artykule wcześniej opisano metabolizm kwasów tłuszczowych występujący w obu grupach przed

odchudzaniem. Działania mające na celu odchudzenie badanych osób spowodowały zmniejszenie masy ciała (średnio o ok. 14 kg), obniżenie BMI, całkowitej masy tkanki tłuszczowej oraz podskórnej i trzewnej tkanki tłuszczowej, a także wpłynęły korzystnie na wrażliwość na insulinę. Zmniejszenie masy ciała miało również wpływ na skład mięśnia, oceniony na podstawie charakterystyki pochłaniania w badaniu tomokomputerowym. Wartości wzmocnienia pochłaniania mięśnia szkieletowego były wyższe, wskazując na częściowe zmniejszenie zawartości lipidów w mięśniu [6]. Ponadto zmniejszyła się powierzchnia przekroju poprzecznego mięśnia, co było spowodowane zmniejszeniem obszaru mięśnia o niskiej gęstości, ponieważ obszar mięśnia o prawidłowej gęstości nie uległ zmianie [12]. Zmniejszenie masy ciała spowodowało znaczące zmniejszenie obojętnych lipidów we włóknach mięśniowych (tzn. triglicerydów mięśniowych) u osób otyłych bez cukrzycy oraz u pacjentów otyłych chorujących na cukrzycę typu 2 [24]. Najwyraźniej postępowanie kliniczne mające na celu zmniejszenie masy ciała może doprowadzić do zredukowania nadmiaru lipidów zgromadzonych w mięśniu szkieletowym, co z kolei zmniejsza insulinooporność.

Ostatnio Kelley i wsp. [37] ocenili wpływ zmniejszenia masy ciała na metabolizm kwasów tłuszczowych w mięśniu. Chociaż zależny od insuliny metabolizm glukozy w mięśniu szkieletowym uległ poprawie o około 50%, efekt zmniejszenia masy ciała w odniesieniu do metabolizmu kwasów tłuszczowych był znacznie mniej wyraźny. Zmniejszenie udziału oksydacji lipidów w warunkach poabsorbcyjnych u pacjentów otyłych utrzymywało się po fazie zmniejszenia masy ciała (ryc. 5). Chociaż poziom wychwyty wolnych kwasów tłuszczowych w kończynie dolnej był niższy po zmniejszeniu masy ciała w warunkach poabsorbcyjnych, wskaźnik oksydacji lipidów utrzymywał się na niższym poziomie, co spowodowało mniejsze spichrzanie kwasów tłuszczowych w tkankach kończyny dolnej. Aktywność CPT nie zmieniła się, podczas gdy poziom aktywności enzymów oksydacyjnych się zmniejszył.

Wydaje się jednak, że zmniejszenie masy ciała wpływa na metabolizm lipidów w warunkach stymulacji insuliną. Podczas wlewu z insuliny poziomy wolnych kwasów tłuszczowych we krwi tętniczej oraz wskaźniki wychwyty wolnych kwasów tłuszczowych surowicy w kończynie dolnej były niższe po zmniejszeniu masy ciała niż w takich samych warunkach przed odchudzeniem. Wlew z insuliny również spowodował istotną supresję oksydacji lipidów w tkankach kończyny dolnej w porównaniu ze znacznie



Rycina 5. Ilość energii uzyskiwana z oksydacji lipidów na czczo nie uległa zmianie po zmniejszeniu masy ciała, podczas gdy w warunkach stymulacji insuliną zmniejszenie masy ciała (WL, *weight loss*) zwiększyło supresję oksydacji lipidów (* $p < 0,01$). Na podstawie *Am. J. Physiol.* 1999; 277: E1130–E1141

zmniejszoną reakcją na insulinę przed zmniejszeniem masy ciała. Powyższe obserwacje wskazują na skuteczniejszą supresję lipolizy w tkankach kończyny dolnej przez insulinę po zmniejszeniu masy ciała, podobną do obserwowanej u osób szczupłych. W połączeniu z wcześniejszymi doniesieniami [84–86] dane te wskazują, że po etapie zmniejszenia masy ciała utrzymują się w mięśni szkieletowym zaburzenia metabolizmu kwasów tłuszczowych na czczo, ale następuje poprawa supresji lipolizy i oksydacji lipidów pod wpływem insuliny. Wysiłek fizyczny u osób szczupłych i zdrowych powoduje zwiększenie wydajności enzymów oksydacyjnych oraz wskaźników oksydacji kwasów tłuszczowych pochodzących z zapasów wewnątrz mięśni w warunkach wysiłku fizycznego [87]. Powyższa obserwacja sugeruje, że zaburzenia metabolizmu lipidów i zwiększone zasoby triglicerydów w mięśni mogą stanowić pierwotne zaburzenia prowadzące do otyłości, a nie wynikają po prostu z nadwagi. Być może wysiłek fizyczny sam lub w połączeniu z utratą masy ciała może skutecznie poprawić metabolizm kwasów tłuszczowych w mięśni szkieletowym, czemu towarzyszy poprawa metabolizmu glukozy w warunkach insulinooporności.

Podsumowanie

Prawie 40 lat temu Randle i wsp. [46] opublikowali wyniki serii doświadczeń, które wykazały, że kwasy tłuszczowe mogą hamować utylizację glukozy w mięśniach szkieletowych. Ich praca spowodowa-

łała rosnące zainteresowanie hipotezą, zgodnie z którą zjawisko kompetycji substratów stanowi potencjalny mechanizm przyczyniający się do insulinooporności u osób z otyłością i u chorych na cukrzycę typu 2. Hipoteza ta uzyskała potwierdzenie, ale nie bez istotnych modyfikacji. Wiadomo, że kwasy tłuszczowe mogą niekorzystnie wpływać na metabolizm glukozy w warunkach stymulacji insuliną. Jednak w ciągu ostatnich 10 lat stwierdzono zarówno w pracach eksperymentalnych, jak i klinicznych, że w cukrzycy typu 2 i otyłości w mięśniach szkieletowych na czczo obserwuje się zmniejszenie zależności od oksydacji lipidów. Do pewnego stopnia zaburzenia poabsorbcyjnej oksydacji lipidów w mięśni mogą być wynikiem zahamowania przez glukozę utylizacji kwasów tłuszczowych — „odwrotny” cykl Randle’a. Jednak badania biochemiczne mięśni szkieletowych, a także badania fizjologiczne wskazują również, że oporny na insulinę mięsień szkieletowy u osób otyłych chorych na cukrzycę typu 2 cechuje się zmniejszoną zdolnością oksydacji kwasów tłuszczowych i tendencją do większego spichrzenia lipidów. Tak więc koncepcja insulinooporności obejmuje zaburzenia oksydacji kwasów tłuszczowych i oznacza brak zdolności przystosowania metabolizmu w odniesieniu do selekcji substratów. Te aspekty zmienionego metabolizmu substratów w mięśni szkieletowym pozwalają uzyskać nowe spojrzenie na silny związek, jaki istnieje pomiędzy insulinoopornością a otyłością. Powyższe obserwacje stwarzają również nowe wyzwania terapeutyczne: jak można poprawić nie tylko metabolizm glukozy, ale także metabolizm kwasów tłuszczowych w mięśni szkieletowym u otyłych chorych na cukrzycę typu 2?

PIŚMIENNICTWO

- Despres J.P.: Abdominal obesity as important component of insulin-resistance syndrome (Review). *Nutrition* 1993; 9: 452–459.
- Tchernof A., Lamarche B., Prud’Homme D., Nadeau A., Moorjani S., Labrie F., Lupien P.J., Despres J.P.: The dense LDL phenotype: association with plasma lipoprotein levels, visceral obesity, and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care* 1996; 19: 629–637.
- Björntorp P.: Metabolic implications of body fat distribution. *Diabetes Care* 1991; 14: 1132–1143.
- Fujioka S., Matsuzawa Y., Tokunaga K., Tarui S.: Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity. *Metabolism* 1987; 36: 54–59.
- Banerji M., Chaiken R., Gordon D., Lebowitz H.: Does intra-abdominal adipose tissue in black men determine whether NIDDM is insulin-resistant or insulin-sensitive? *Diabetes* 1995; 44: 141–146.
- Goodpaster B.H., Kelley D.E., Wing R.R., Meier A., Thaete F.L.: Effects of weight loss on regional fat distribution and insulin sensitivity in obesity. *Diabetes* 1999; 48: 839–847.

7. Marceau P., Biron S., Hould F.S., Marceau S., Simard S., Thung S.N., Kral J.G.: Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J. Clin. Endocrinol.* 1999; 84: 1513–1517.
8. Marchesini G., Brizi M., Morselli-Labate A.M., Bianchi G., Bugianesi E., McCullough A.J., Forlani G., Melchionda N.: Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am. J. Med.* 1999; 107: 450–455.
9. Ryysy L., Hakkinen A.M., Goto T., Vehkavaara S., Westerbacka J., Halavaara J., Yki-Jarvinen H.: Hepatic fat content and insulin action on free fatty acids and glucose metabolism rather than insulin absorption are associated with insulin requirements during insulin therapy in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2000; 49: 749–758.
10. Rebrin K., Steil G.M., Getty L., Bergman R.N.: Free fatty acid as a link in the regulation of hepatic glucose output by peripheral insulin. *Diabetes* 1995; 44: 1038–1045.
11. Carey D.G., Jenkins A.B., Campbell L.V., Freund J., Chisholm D.J.: Abdominal fat and insulin resistance in normal and overweight women. *Diabetes* 1996; 45: 633–638.
12. Goodpaster B.H., Thaete F.L., Kelley D.E.: Thigh adipose tissue distribution is associated with insulin resistance in obesity and in type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 71: 885–892.
13. Goodpaster B.H., Thaete F.L., Simoneau J.A., Kelley D.E.: Subcutaneous abdominal fat and thigh muscle composition predict insulin sensitivity independently of visceral fat. *Diabetes* 1997; 46: 1579–1585.
14. Kelley D.E., Slasky S., Janosky J.: Skeletal muscle density: effects of obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991; 54: 509–515.
15. Goodpaster B.H., Kelley D.E., Thaete F.L., He J., Ross R.: Skeletal muscle attenuation determined by computed tomography is associated with skeletal muscle lipid content. *J. Appl. Physiol.* 2000; 89: 104–110.
16. Simoneau J.A., Colberg S.R., Thaete F.L., Kelley D.E.: Skeletal muscle glycolytic and oxidative enzyme capacities are determinants of insulin sensitivity and muscle composition in obese women. *FASEB J.* 1995; 9: 273–278.
17. Boesch C., Slotboom J., Hoppeler H., Kreis R.: In vivo determination of intra-myocellular lipids in human muscle by means of localized 1H-MR-spectroscopy. *Magn. Reson. Med.* 1997; 37: 484–493.
18. Szczepaniak L.S., Babcock E.E., Schick F., Dobbins R.L., Garg A., Burns D.K., McGarry J.D., Stein D.T.: Measurement of intracellular triglyceride stores by H spectroscopy: validation in vivo. *Am. J. Physiol.* 1999; 276: E977–E989.
19. Perseghin G., Scifo P., De Cobelli F., Pagliato E., Battezzati A., Arcelloni C., Vanzulli A., Testolin G., Pozza G., Del Maschio A., Luzi L.: Intramyocellular triglyceride content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: a 1H–13C nuclear magnetic resonance spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents. *Diabetes* 1999; 48: 1600–1606.
20. Pan D.A., Lillioja S., Kriketos A.D., Milner M.R., Baur L.A., Bogardus C., Jenkins A.B., Storlein L.H.: Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes* 1997; 46: 983–988.
21. Storlien L., Jenkins A., Chisholm D., Pascoe W., Khouri S., Kraegen E.W.: Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats: relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. *Diabetes* 1991; 40: 280–289.
22. Shimabukuro M., Koyama K., Chen G., Wang M.Y., Trieu F., Lee Y., Newgard C.B., Unger R.H.: Direct antidiabetic effect of leptin through triglyceride depletion of tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997; 94: 4637–4641.
23. Phillips D.I., Caddy S., Ilic V., Fielding B.A., Frayn K.N., Borthwick A.C., Taylor R.: Intramuscular triglyceride and muscle insulin sensitivity: evidence for a relationship in nondiabetic subjects. *Metabolism* 1996; 45: 947–950.
24. Goodpaster B.H., Theriault R., Watkins S.C., Kelley D.E.: Intramuscular lipid content is increased in obesity and decreased by weight loss. *Metabolism* 2000; 49: 467–472.
25. Hoppeler H., Howald H., Conley K., Lindstedt S.L., Claassen H., Vock P., Weibel E.R.: Endurance training in humans: aerobic capacity and structure of skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 1985; 59: 320–327.
26. Morgan T.E., Short F.A., Cobb L.A.: Effect of long-term exercise on skeletal muscle lipid composition. *J. Appl. Physiol.* 1969; 216: 82–86.
27. Dela F., Larsen J.J., Mikines K.J., Ploug T., Petersen L.N., Galbo H.: Insulin-stimulated muscle glucose clearance in patients with NIDDM. *Diabetes* 1995; 44: 1010–1020.
28. Mayer-Davis E.J., D'Agostino R. Jr., Karter A.J., Haffner S.M., Rewers M.J., Saad M., Bergman R.N.: Intensity and amount of physical activity in relation to insulin sensitivity: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *JAMA* 1998; 279: 669–674.
29. Gollnick P.D., Saltin B.: Significance of skeletal muscle oxidative enzyme enhancement with endurance training. *Clin. Physiol.* 1982; 2: 1–12.
30. Carlson L.A., Ekelund L.G., Froberg S.O.: Concentration of triglycerides, phospholipids and glycogen in skeletal muscle and of free fatty acids and β -hydroxybutyric acid in blood in man in response to exercise. *Eur. J. Clin. Invest* 1971; 1: 248–254.
31. Froberg S.O., Mossfeldt F.: Effect of prolonged strenuous exercise on the concentration of triglycerides, phospholipids and glycogen in muscle of man. *Acta. Physiol. Scand.* 1971; 82: 167–171.
32. Romijn J.A., Coyle E.F., Sidossis L.S., Gastaldelli A., Horowitz J.F., Ender E., Wolfe R.R.: Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am. J. Physiol.* 1993; 265: E380–E391.
33. Dyck D.J., Peters S.J., Glatz J., Gorski J., Keizer H., Kiens B., Liu S., Richter E.A., Spriet L.L., van der Vusse G.J., Bonen A.: Functional differences in lipid metabolism in resting skeletal muscle of various fiber types. *Am. J. Physiol.* 1997; 271: E340–E351.
34. Ruderman N.B., Saha A.K., Vavvas D., Kurowski T., Laybutt D.R., Schmitz-Peiffer C., Biden T., Kraegen E.W.: Malonyl CoA as a metabolic switch and a regulator of insulin sensitivity. *W: Skeletal Muscle Metabolism in Exercise and Diabetes*. Richter E.A., Kiens B., Galbo H. (red.). New York, Plenum Press, 1998, 263–270.
35. Andres R., Cadar G., Zierler K.: The quantitatively minor role of carbohydrate in oxidative metabolism by skeletal muscle in intact man in the basal state. *J. Clin. Invest.* 1956; 35: 671–682.
36. Colberg S., Simoneau J.A., Thaete F.L., Kelley D.E.: Impaired FFA utilization by skeletal muscle in women with visceral obesity. *J. Clin. Invest.* 1995; 95: 1846–1853.
37. Kelley D.E., Goodpaster B.H., Wing R.R., Simoneau J.A.: Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity and weight loss. *Am. J. Physiol.* 1999; 277: E1130–E1141.
38. Sidossis L.S., Stuart C.A., Shulman G.I., Lopaschuk G.D., Wolfe R.R.: Glucose plus insulin regulate fat oxidation by controlling the rate of fatty acid entry into the mitochondria. *J. Clin. Invest.* 1996; 98: 2244–2250.
39. Berk P.D., Zhou S.-L., Bradbury M., Stump D., Han N.-I.: Characterization of membrane transport processes: lessons learned from the study of BSP, bilirubin, and fatty acid uptake. *Semin. Liver Dis.* 1996; 16: 107–120.
40. Boden G., Chen X., Ruiz J., White J.V., Rossetti L.: Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J. Clin. Invest.* 1994; 93: 2438–2446.
41. Felber J.P., Ferrannini E., Golay A., Meyer H., Thiebaud D., Curchod B., Maeder E., Jequier E., DeFronzo R.: Role of lipid oxidation in the pathogenesis of insulin resistance of obesity and type II diabetes. *Diabetes* 1987; 36: 1341–1350.
42. Groop L.C., Saloranta C., Shank M., Bonnadonna R.C., Ferrannini E., DeFronzo R.A.: The role of free fatty acid metabolism

- in the pathogenesis of insulin resistance in obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1991; 72: 96–107.
43. Kelley D.E., Mokan M., Simoneau J.A., Mandarino L.J.: Interaction between glucose and free fatty acid metabolism in human skeletal muscle. *J. Clin. Invest.* 1993; 92: 93–98.
 44. Kelley D.E., Simoneau J.A.: Impaired FFA utilization by skeletal muscle in NIDDM. *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 2349–2356.
 45. Roden M., Price T.B., Perseghin G., Petersen K.F., Rothman D.L., Cline G.W., Shulman G.I.: Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J. Clin. Invest.* 1996; 97: 2859–286.
 46. Randle P.J., Garland P.B., Hales C.N., Newsholme E.A.: The glucose fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1963; 1: 785–789.
 47. Boden G., Chen X.: Effects of fat on glucose uptake and utilization in patients with non-insulin-dependent diabetes. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 1261–1268.
 48. Cortright R.N., Azevedo J.L. Jr., Zhou Q., Sinha M., Pories W.J., Itani S.I., Dohm G.L.: Protein kinase C modulates insulin action in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 2000; 278: E553–E662.
 49. Itani S.I., Zhou Q., Pories W.J., MacDonald K.G., Dohm G.L.: Involvement of protein kinase C in human skeletal muscle insulin resistance and obesity. *Diabetes* 2000; 49: 1353–1358.
 50. Laybutt D.R., Schmitz-Peiffer S., Ruderman N.B., Chisholm D., Biden T., Kraegen E. W.: Activation of protein kinase C 101.: ϕ : α 12 may contribute to muscle insulin resistance induced by lipid accumulation during chronic glucose infusion in rats (Abstract). *Diabetes* 1997; 46: 241A.
 51. Schmitz-Peiffer C., Oakes N.D., Browne C.L., Kraegen E.W., Biden T.J.: Alterations in the expression and cellular localization of protein kinase C isozymes ϵ and Θ are associated with insulin resistance in skeletal muscle of the high-fat-fed rat. *Diabetes* 46: 1997; 169–178.
 52. Schmitz-Peiffer C., Oakes N.D., Browne C.L., Kraegen E.W., Biden T.J.: Reversal of chronic alterations of skeletal muscle protein kinase C from fat-fed rats by BRL-49653. *Am. J. Physiol* 1997; 273: E915–E921.
 53. Kelley D.E., Mandarino L.J.: Hyperglycemia normalizes insulin-stimulated skeletal muscle glucose oxidation and storage in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 1990; 86: 1999–2007.
 54. Mandarino L.J., Consoli A., Kelley D.E.: Differential regulation of intracellular glucose metabolism by glucose and insulin in human muscle. *Am. J. Physiol.* 1996; 265: E898–E905.
 55. Mandarino L.J., Consoli A., Kelley D.E.: Effects of obesity and NIDDM on glucose and insulin regulation of substrate oxidation in skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 1996; 270: E463–E470.
 56. Cortez M.Y., Torgan C.E., Brozinick J.T., Miller R.H., Ivy J.L.: Effects of pyruvate and dihydroxyacetone consumption on the growth and metabolic state of obese Zucker rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991; 53: 847–853.
 57. Torgan C.E., Brozinick J.T., Willems M.E.T., Ivy J.L.: Substrate utilization during acute exercise in obese Zucker rats. *J. Appl. Physiol.* 1990; 69: 1987–1991.
 58. Kelley D., Reilly J., Veneman T., Mandarino L.J.: Effect of insulin on skeletal muscle glucose storage, oxidation, and glycolysis in humans. *Am. J. Physiol.* 1990; 258: E923–E929.
 59. Kelley D.E., Mintun M.A., Watkins S.C., Simoneau J.A., Jadali F., Fredrickson A., Beattie J., Theriault R.: The effect of non-insulin-dependent diabetes mellitus and obesity on glucose transport and phosphorylation in skeletal muscle. *J. Clin. Invest.* 1996; 97: 2705–2713.
 60. Turcotte L.P.: Fatty acid binding proteins and muscle lipid metabolism in skeletal muscle. W: *Biochemistry of Exercise*. Hargreaves M. (red.). Champaign, IL, Human Kinetics; 1999: 210–215.
 61. Simoneau J.A., Veerkamp J.H., Turcotte L.P., Kelley D.E.: Markers of capacity to utilize fatty acids in human skeletal muscle: relation to insulin resistance and obesity and effects of weight loss. *FASEB J.* 1999; 13: 2051–2060.
 62. Blaak E.E., Wagenmakers A.J.M., Glatz J.F.C., Wolffenbuttel B.H.R., Kemerink G.J., Langenberg C.J.M., Heidendal G.A.K., Saris W.H.M.: Plasma FFA utilization and fatty acid-binding protein content are diminished in type 2 diabetic muscle. *Am. J. Physiol.* 2000; 279: 146–154.
 63. McGarry J.D., Brown N.F.: The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system: from concept to molecular analysis. *Eur. J. Biochem.* 1997; 224: 1–14.
 64. Saha A.K., Vavvas T., Kurowski T.G., Apazidis A., Witters L.A., Shafirir E., Ruderman N.B.: Malonyl-CoA regulation in skeletal muscle: its link to cell citrate and the glucose-fatty acid cycle. *Am. J. Physiol.* 1997; 272: E641–E648.
 65. Kruszynska Y.E., Mulford M.L., Baloga J., Yu J.G., Olefsky J.M.: Regulation of skeletal muscle hexokinase II by insulin in non-diabetic and NIDDM subjects. *Diabetes* 1998; 47: 1107–1113.
 66. Pendergrass M., Koval J., Vogt C., Yki-Jarvinen H., Iozzo P., Pipek R., Ardehali H., Printz R., Granner D.K., DeFronzo R.A., Mandarino L.J.: Insulin-induced hexokinase II expression is reduced in obesity and NIDDM. *Diabetes* 1998; 47: 387–394.
 67. Simoneau J.A., Kelley D.E.: Altered skeletal muscle glycolytic and oxidative capacities contribute to insulin resistance in NIDDM. *J. Appl. Physiol.* 1997; 83: 166–171.
 68. Simoneau J.A., Kelley D.E., Neverova M., Warden C.H.: Overexpression of muscle uncoupling protein-2 content in human obesity associates with reduced skeletal muscle lipid utilization. *FASEB J* 1998; 12: 1739–1745.
 69. Saltin B., Gollnick P.D.: Skeletal muscle adaptability: significance for metabolism and performance. W: *Handbook of Physiology*. Section 10: Skeletal Muscle. Peachey L.D., Adrian R., Geiger S.R. (red.). Baltimore, Williams & Wilkins; 1983: 555–632.
 70. Kelley D.E., Mandarino L.J.: Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance. *Diabetes* 2000; 49: 677–683.
 71. Long S.D., O'Brien K., MacDonald K.G. Jr., Leggett-Frazier N., Swanson M.S., Pories W.J., Caro J.F.: Weight loss in severely obese subjects prevents the progression of impaired glucose tolerance to type II diabetes: a longitudinal interventional study. *Diabetes Care* 1994; 17: 372–375.
 72. Wing R.R., Vendetti E., Jakicic J.M., Polley B.A., Lang W.: Lifestyle intervention in overweight individuals with a family history of diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21: 350–359.
 73. Henry R.R., Wallace P., Olefsky J.M.: Effect of weight loss on mechanisms of hyperglycemia in obese non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 1986; 35: 990–998.
 74. Kelley D.E., Wing R., Buonocore C., Sturis J., Polonsky K., Fitzsimmons M.: Relative effects of calorie restriction and weight loss in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1993; 77: 1287–1293.
 75. Wing R.R., Blair E., Marcus M., Epstein L.H., Harvey J.: Year-long weight loss treatment for obese patients with type II diabetes: does including an intermittent very-low-calorie diet improve outcome? *Am. J. Med.* 1994; 97: 354–362.
 76. Wing R.R., Blair E.H., Bononi P., Marcus M.D., Watanabe R., Bergman R.N.: Caloric restriction per se is a significant factor in improvements in glycemic control and insulin sensitivity during weight loss in obese NIDDM patients. *Diabetes Care* 1994; 17: 30–36.
 77. Maggio C.A., Pi-Sunyer F.X.: The prevention and treatment of obesity: application to type 2 diabetes (Review). *Diabetes Care* 1997; 20: 1744–1766.
 78. Goldstein D.J.: Beneficial effects of modest weight loss. *Int. J. Obes.* 1992; 16: 397–415.
 79. Wing R.R., Koeske R., Epstein L.H., Nowalk M.P., Gooding W., Becker D.: Long-term effects of modest weight loss in

- type II diabetic patients. *Arch. Intern. Med.* 1987; 147: 1749–1753.
80. Bodkin N.L., Ortmeyer H.K., Hansen B.C.: Long-term dietary restriction in olderaged rhesus monkeys: effects on insulin resistance. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 1995; B142–B147.
81. Zurlo F., Lillioja S., Esposito-DelPuente A., Nyomba B.L., Raz I., Saad M.F., Swinburn W.C., Knowler W.C., Bogardus C., Ravussin E.: Low ratio of fat to carbohydrate oxidation as a predictor of weight gain: a study of 24-h RQ. *Am. J. Physiol.* 1990; 259: E650–E657.
82. Ferraro R., Eckel R., Larson E. Fontvielle A., Rising R., Jensen D., Ravussin E.: Relationship between lipoprotein lipase activity and 24-hour macronutrient oxidation. *J. Clin. Invest.* 1993; 92: 441–445.
83. Zurlo F., Nemeth P.M., Choksi R.M., Sesodia S., Ravussin E.: Whole-body energy metabolism and skeletal muscle biochemical characteristics. *Metabolism* 1994; 43: 481–486.
84. Bryson J.M., King S.E., Burns C.M., Baur L.A., Swaraj S., Cateron I.D.: Changes in glucose and lipid metabolism following weight loss produced by a very low calorie diet in obese subjects. *Int. J. Obes.* 1996; 20: 338–345.
85. Blaak E.E., Van Baak M.A., Kemerink G.J., Pakbiers M.T., Heidendal G.A., Saris W.H.: Beta-adrenergic stimulation of skeletal muscle metabolism in relation to weight reduction in obese men. *Am. J. Physiol.* 1994; 267: E316–E322.
86. Ranneries C., Bulow J., Buemann B., Christensen N.J., Madsen J., Astrup A.: Fat metabolism in formerly obese women. *Am. J. Physiol.* 1998; 274: E155–E161.
87. Hurley B.F., Nemeth P.M., Martin W.H., Hagberg J.M., Dal-sky G.P., Holloszy J.O.: Muscle triglyceride utilization during exercise: effect of training. *J. Appl. Physiol.* 1986; 60: 562–567.