

REVIEW

ADIPOCHINE: DALLA CELLULA ADIPOSA AL DANNO CARDIOVASCOLARE

Adipokines: the link from adipocyte to cardiovascular disease

MICHELA ZANETTI, GIULIANO ZABUCCHI, FRANCO SPANGARO,
MAURIZIO FONDA, LUIGI CATTIN

Dipartimento di Scienze Mediche, Chirurgiche e della Salute, Università degli Studi di Trieste

SUMMARY

The known association between obesity, its metabolic complications and cardiovascular disease has led to the identification of adipose tissue as the common denominator underlying the three conditions. It secretes a number of molecules known as adipokines, which exhibit both systemic metabolic effects and independent activity on numerous cells of the cardiovascular system, including cardiomyocytes and resident cells of the vascular wall. Adiponectin exerts anti-inflammatory and anti-atherosclerotic activity on the vasculature, while resistin has pro-inflammatory effects and stimulates the proliferation of smooth muscle cells, thus promoting the development of atherosclerotic plaque. Leptin plays an important role in cardiac remodeling and in the regulation of blood pressure through the activation of the sympathetic system.

Obesity is associated with hypertrophy of adipose tissue, which stimulates macrophage infiltration and the production of pro-inflammatory adipokines; in contrast the production of anti-inflammatory adipokines is blunted. From this delicate balance between pro-and anti-inflammatory molecules generated by the adipose tissue depends not only the development of metabolic complications associated with obesity, but also the onset and progression of cardiovascular disease. In addition to the classic adipokines discussed in detail in this review (adiponectin, resistin and leptin) several other adipokines have been recently described, whose role in cardiovascular disease is currently under investigation. Finally, the possibility of using adipokines as therapeutic targets opens new perspectives for the treatment of metabolic and cardiovascular complications of obesity.

Keywords: *Adipokines, adipose tissue, metabolic syndrome, obesity, cardiovascular disease.*

Introduzione

I progressi compiuti nella comprensione dei meccanismi molecolari che regolano la funzione del tessuto adiposo ci han-

no indotto a scrivere questa rassegna sui rapporti tra adipochine e cardiovasculopatie. Il tessuto adiposo è costituito da un conglomerato di adipociti immersi in una matrice di tessuto connettivo contenente molti tipi di cellule tra cui precursori degli adipociti, fibroblasti e cellule del sistema immunitario.

Tradizionalmente il tessuto adiposo è stato considerato un deposito di energia;

Indirizzo per la corrispondenza

Luigi Cattin

UCO III Medica, DSMCS

Università degli Studi di Trieste

E-mail: cattin@units.it

recentemente ha assunto un crescente interesse scientifico ed è ora considerato un vero e proprio organo endocrino che, oltre ad intervenire attivamente nella regolazione del metabolismo lipidico e glucidico, è in grado di secernere diverse centinaia di molecole biologicamente attive, chiamate adipocitochine o adipochine, che si trovano in stretto equilibrio tra loro e che sono in grado di regolare le funzioni metaboliche di vari organi e tessuti (1-3). Molte di queste molecole agiscono come effettori positivi, regolando il bilancio energetico e garantendo la normale omeostasi metabolica, altre sono secrete dal tessuto adiposo in risposta a condizioni di stress o in presenza di obesità, specie viscerale, con effetti negativi sui tessuti bersaglio come l'induzione di insulino-resistenza, che costituisce il substrato patogenetico della sindrome metabolica e delle sue complicanze.

Alcune adipochine sono prodotte esclusivamente o prevalentemente dal tessuto adiposo (ad esempio adiponectina, leptina, ed altre) un ulteriore gruppo di citochine, tra cui TNF- α , IL-6, resistina e MCP-1, sono secrete anche in altre sedi da cellule del sistema immunitario (monocito-macrofagi) e da quelle endoteliali (1-3). Nel tessuto adiposo alcune adipochine possono essere secrete sia dagli adipociti che da cellule macrofagiche tissutali (3, 4).

Le adipochine possiedono numerosi effetti sistemici tra cui la regolazione della pressione arteriosa, dell'omeostasi emocoagulativa e della funzione immunitaria (2, 4); il loro ruolo metabolico si esplica attraverso la regolazione del metabolismo lipidico e glucidico (2, 5). Alcune di esse sono anche in grado di attivare la risposta infiammatoria sistemica, che a sua volta ha un impatto negativo sulla sensibilità insulinica e che, insieme alla capacità di modulare la funzione vascolare, incrementa il

rischio cardiovascolare (1-3). La produzione di ormoni, quali TNF- α ed IL-6, a livello adiposo, monocito-macrofagico ed endoteliale testimonia ulteriormente la stretta relazione tra tessuto adiposo, infiammazione e aterogenesi (1-4). In questa review dedicheremo un breve spazio all'epidemiologia dell'obesità e alle sue complicanze metaboliche, soffermandoci in particolare sulle adipochine clinicamente più importanti, sui loro effetti metabolici e sulle loro funzioni in salute e in malattia; infine esamineremo la relazione tra malattie cardiovascolari e adipochine, partendo dai loro effetti molecolari che, come un sottile filo rosso, segneranno il percorso che dal tessuto adiposo porta al cuore e alle arterie periferiche.

Obesità

Definizione, Epidemiologia

In accordo con la definizione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, l'obesità è una condizione caratterizzata da un eccesso di peso corporeo dovuto all'accumulo di tessuto adiposo; è una malattia cronica ad eziologia multifattoriale la cui prevalenza è in costante aumento e la cui presenza predispone all'insorgenza di diabete di tipo 2, ipertensione arteriosa, malattie cardiovascolari, alcuni tipi di cancro, malattie epato-biliari, osteo-articolari, respiratorie, dell'apparato riproduttivo e persino a vere e proprie sindromi psichiatriche (5). L'obesità rappresenta un problema crescente di sanità pubblica: la prevalenza in Europa è del 10-20% negli uomini e del 15-25% nelle donne. Riferendoci ai dati dello studio PASSI (Progressi delle Aziende Sanitarie per la Salute in Italia) del 2008 (6), in Italia tre adulti su dieci (32%) sono in sovrappeso, mentre uno su dieci è obeso (*Tabella 1*). Dunque, il 42%

Tabella I - Prevalenza dell'eccesso ponderale in Italia per sesso e fasce d'età (Dati estrapolati dallo Studio PASSI (6) e Okkio alla Salute, Ministero della Sanità, 2011).

	Sovrappeso	Obesità
Tutta la popolazione (%)	32	10
Maschi (%)	39	11
Femmine (%)	24	10
Bambini (8-9 anni) (%)	23	12
18-34 anni (%)	20	5
35-49 anni (%)	32	10
50-60 anni (%)	41	16

della popolazione tra i 18 e i 69 anni presenta un eccesso ponderale e questa condizione aumenta con l'aumentare dell'età, passando dal 18% nella classe 18-24 anni al 58% in quella 50-69. Le differenze rilevate sul territorio nazionale sono considerevoli e nel confronto tra regioni si osserva un gradiente nord-sud: più in dettaglio, la Lombardia è la regione con la percentuale più bassa di persone in sovrappeso (33%), mentre la Basilicata è quella con il tasso più elevato (54%). Lasciamo al lettore immaginare le ripercussioni di tipo economico e logistico sul Servizio Sanitario Nazionale, cui si deve aggiungere il peso sociale ed economico derivante dallo stato di malattia e dalle morti premature (7).

La distribuzione del tessuto adiposo in differenti depositi anatomici ha sostanziali implicazioni sulla morbilità. In particolare il grasso viscerale addominale ha importanza metabolica maggiore del grasso sottocutaneo (8). L'accumulo di grasso viscerale addominale può essere facilmente stimato misurando la circonferenza addominale, che lo riflette in modo sufficientemente accurato. Molte delle complicanze più gravi dell'obesità come diabete, ipertensione e dislipidemia sono più strettamente collegate all'accumulo di grasso viscerale che all'adiposità totale. Il meccanismo responsabile non è del tutto

conosciuto, anche se è probabilmente collegato alla maggiore attività lipolitica degli adipociti viscerali rispetto a quelli delle altre zone di deposito e alla liberazione diretta di acidi grassi non esterificati nel sangue portale (8).

Il sovrappeso e l'obesità sono definiti come un anomalo o eccessivo accumulo di massa grassa (tessuto adiposo) tale da rappresentare un rischio per la salute (9). Non esistendo metodi pratici e affidabili per misurare la massa grassa nella pratica clinica, la prevalenza dell'obesità nella popolazione è misurata attraverso l'indice di massa corporea o body mass index (BMI), dato dal rapporto tra il peso del soggetto (in chilogrammi) e il quadrato della sua altezza (in metri) ($BMI = kg/m^2$). L'obesità e il sovrappeso vengono classificati dalla Organizzazione Mondiale della Sanità nel seguente modo:

Classificazione	Cut-off BMI principali	Cut-off BMI aggiuntivi
Sovrappeso	25-29, 99	25-27, 49 27, 50-29, 99
Obesità	≥ 30	≥ 30
Obesità di I grado	30-34, 99	30-32, 49 32, 50-34, 99
Obesità di II grado	35-39, 99	35-37, 49 37, 5-39, 99
Obesità di III grado	≥ 40	≥ 40

Un soggetto con BMI uguale o superiore a 30 kg/m^2 viene considerato obeso, mentre un individuo con BMI uguale o superiore a 25 kg/m^2 in sovrappeso. Un'altra definizione di sovrappeso e obesità si basa sul peso ideale, dipendente dall'altezza, dal peso, dalla massa scheletrica e dal sesso, che corrisponde al peso al quale, statisticamente, un individuo ha le minori probabilità di ammalarsi. In accordo con questo criterio, si definisce sovrappeso la condizione in cui il peso corporeo supera il 10% del peso ideale ed obesità la condizione in cui il peso supera del 20% il peso ideale (9, 10).

A seconda della distribuzione del grasso eccedente si possono distinguere:

- Obesità "androide": a prevalente localizzazione addominale (viscerale);
- Obesità "ginoide": a prevalente localizzazione a livello di cosce e bacino;
- Obesità mista.

Come sopra ricordato, la misura del grasso viscerale può essere surrogata da quella della circonferenza addominale. Essa, in numerosi studi epidemiologici, correla in modo indipendente con le complicanze metaboliche e cardiovascolari (8, 9), al punto da rappresentare un ulteriore parametro di definizione per l'obesità stessa, indicata da una circonferenza addominale superiore a 102 cm nell'uomo ed a 88 cm nella donna. Nonostante l'obesità sia stata introdotta nella classificazione internazionale delle malattie solo da mezzo secolo, sta attualmente raggiungendo proporzioni epidemiche. Le ragioni di tale diffusione esponenziale sono da ricercare, oltre che in una predisposizione genetica, nell'affermarsi (anche in paesi economicamente emergenti) di stili di vita caratterizzati da dieta ipercalorica e iperlipidica abbinata ad una sempre maggiore sedentarietà. I dati sulla popolazione statuniten-

se adulta con obesità (BMI ≥ 30) indicano che l'obesità, pari al 14,5% nel 1980, è più che raddoppiata all'inizio degli anni 2000 con un trend in continua ascesa; l'obesità grave (BMI ≥ 40), che nel 2000 colpiva il 4,7% della popolazione mondiale, nel 2005 interessava almeno 400 milioni di adulti obesi; le stime per il 2015 prevedono che il numero lieviterà fino a raggiungere i 700 milioni, di cui la maggior parte costituita da soggetti, soprattutto donne, appartenenti ai ceti meno abbienti (10). Anche in Europa la prevalenza di sovrappeso e obesità è andata costantemente crescendo nelle ultime decadi; secondo l'International Obesity Task Force un numero sempre maggiore di Stati membri dell'Unione Europea ha livelli di obesità che eccedono il 20% della popolazione, mentre più del 50% della popolazione adulta è in sovrappeso. In Italia, secondo l'ultimo rapporto dell'Istituto Auxologico (<http://www.auxologico.it/>) ci sono circa 5,5 milioni di obesi e 16,5 milioni in sovrappeso, segnando un impressionante aumento di circa 6 milioni di unità rispetto al 2003 (Tabella 1).

Complicanze metaboliche

L'obesità è una malattia cronica che determina a sua volta un aumentato rischio di sviluppare numerose complicanze, tra cui assumono particolare rilevanza quelle metaboliche: insulino-resistenza, diabete mellito tipo 2 e dislipidemia aterogena. Come conseguenza, l'obesità si associa a una ridotta aspettativa di vita, che risulta diminuita da 5 a 20 anni nelle persone con obesità più grave. Il rischio di morte associato all'obesità aumenta parallelamente a ogni unità di BMI in eccesso e tende a diminuire con l'età, pur rimanendo elevato fino ai settantacinque anni (11). Il termine "diabesity" fu coniato negli anni '70 per sottolineare l'importanza dell'associazione tra obesità e diabete mellito tipo 2 (11): il

90% circa dei pazienti che sviluppano diabete hanno un BMI maggiore di 23 kg/m², mentre nello studio Ecodia, condotto in Francia alla fine degli anni novanta, il 46% dei diabetici aveva un BMI superiore a 30 kg/m² (12). Tra gli obesi il rischio di diabete è aumentato dalla distribuzione addominale del grasso, dalla durata dell'obesità - l'obesità infantile è maggiormente associata al rischio di sviluppare diabete in età adulta - dalla comparsa di diabete gestazionale e dalla familiarità (5).

Il diabete di tipo 2 è causato fondamentalmente da un difetto di azione insulinica in molteplici tessuti bersaglio, con particolare riguardo alla ridotta capacità dell'ormone di stimolare l'utilizzazione del glucosio nel muscolo scheletrico e di inibirne la produzione nel fegato; l'alterazione si accompagna invariabilmente alla progressiva incapacità da parte delle cellule beta di aumentare la secrezione compensatoria di insulina. La misurazione della resistenza all'insulina fornisce un forte e precoce fattore predittivo di diabete di tipo 2 (11) e, anche in assenza di iperglicemia o diabete, la resistenza insulinica è un importante fattore di rischio di morbilità e mortalità cardiovascolare precoce.

Nell'ambito delle complicanze metaboliche, particolare rilevanza assume la dislipidemia aterogena caratterizzata da livelli elevati di trigliceridi, ridotti di colesterolo HDL e da alterazioni qualitative delle LDL con prevalenza di particelle di piccole dimensioni ed elevata densità, cui si associano frequentemente livelli pressori, anche solo moderatamente, elevati (13). L'associazione dei fattori sopra elencati con l'obesità addominale, che ne costituisce il substrato patogenetico, definisce la cosiddetta sindrome metabolica. Utilizzando i criteri dell'ATP III (Adult Treatment Panel III) la prevalenza della sindrome è stimata intorno al 34,5% della popolazione adulta

nordamericana (14), in cui varia con l'età e in base al gruppo etnico, aumentando dal 6,7% nei soggetti tra i 20 e 29 anni al 43,5% nella decade 60-69, per assestarsi intorno al 42% nelle persone più anziane. Nel suo insieme la prevalenza è simile negli uomini e nelle donne (24% verso 23,4%), anche se vi sono rilevanti differenze di sesso nei gruppi etnici a rischio più elevato: ad esempio, la prevalenza nelle donne afroamericane o di origine ispanica supera il 50% in confronto al 31% degli uomini. La sindrome metabolica presenta in generale dimensioni epidemiche a livello mondiale, anche studi italiani hanno confermato prevalenze intorno al 23% in entrambi i sessi (15).

I meccanismi che legano l'eccesso ponderale all'insulino-resistenza, al diabete e alla sindrome metabolica sono complessi e multifattoriali. In anni recenti è emerso il ruolo della risposta infiammatoria sistemica e tissutale (1), e dei radicali liberi dell'ossigeno nello stress ossidativo (16), a loro volta in grado di attivare risposte infiammatorie a livello sistemico e locale (17). L'infiammazione sistemica è misurabile mediante la determinazione dei livelli delle citochine pro-infiammatorie circolanti e di marcatori come la Proteina C-Reattiva (PCR). Le citochine pro-infiammatorie, con particolare riguardo al TNF α , sono infatti in grado di inibire il segnale insulinico tissutale a livello muscolare ed epatico (16, 17), sia direttamente che attivando vie di segnale alternative come NF-kB, che a sua volta amplifica la cascata infiammatoria (18). La presenza di stress ossidativo è a sua volta misurabile mediante marcatori surrogati prodotti dall'interazione di molecole circolanti e tissutali con i radicali liberi dell'ossigeno. Nonostante bassi livelli di stress ossidativo siano da considerarsi fisiologici, facciano parte di risposte adattative anche metaboliche e siano parte

integrante dell'attivazione del segnale insulinico (19), l'obesità è caratterizzata da un'amplificazione di tali processi causata da un'ulteriore attivazione NF-κB dipendente dell'infiammazione sistemica e tissutale, riconducibile almeno in parte ad elevati livelli circolanti di substrati glucidici e lipidici (20). La comprensione della funzione metabolica del tessuto adiposo e della sua capacità di modulare infiammazione e insulino-sensibilità, mediante la produzione di citochine e adipochine, ha confermato che il tessuto adiposo in eccesso può di per sé contribuire alle alterazioni metaboliche dell'obesità.

Metabolismo energetico e lipotossicità

Sebbene le alterazioni del metabolismo glucidico caratterizzino, per definizione, l'insulino-resistenza e il diabete, appare sempre più evidente che esse sono associate a profonde modificazioni del metabolismo lipidico tissutale, che a sua volta può contribuire alla loro insorgenza. In particolare, negli ultimi anni è emerso come, in pazienti obesi e in modelli sperimentali di obesità e soprattutto in presenza di complicanze metaboliche, sia presente un'alterazione del metabolismo ossidativo degli acidi grassi a livello muscolare ed epatico. L'alterazione è comunemente associata a una ridotta capacità ossidativa mitocondriale e può portare ad accumulo tissutale di lipidi, in particolare di trigliceridi. Accanto ai trigliceridi, si accumulano anche digliceridi, ceramidi e altri composti che sembrano avere un impatto metabolico negativo diretto anche sul segnale insulinico (20, 21).

Tali osservazioni hanno portato ad ipotizzare un meccanismo patogenetico indipendente di insulino-resistenza muscolare ed epatica; numerosi studi hanno in effetti dimostrato una stretta associazione tra accumulo muscolare di trigliceridi e insulino-

resistenza (22). Occorre inoltre ricordare che l'accumulo di trigliceridi nell'epatocita rappresenta una complicanza di per sé clinicamente rilevante nota come NAFLD (steatosi epatica non alcolica), associata in modo indipendente a numerose complicanze metaboliche e cardiovascolari (23) e al rischio di evoluzione in steatoepatite non-alcolica (NASH), cirrosi e cancro (24). Oltre all'eccessiva disponibilità di substrati, nella patogenesi dell'accumulo lipidico muscolare ed epatico gioca un ruolo non secondario l'alterata funzione mitocondriale.

Nonostante non sia stata confermata in tutti i modelli sperimentali di insulino-resistenza associata ad obesità, appare ragionevole ipotizzare che la disfunzione mitocondriale possa contribuire ad aggravare le alterazioni metaboliche e l'insulino-resistenza stessa. L'ipotesi è stata indirettamente rafforzata da recenti osservazioni sperimentali, in cui l'infiammazione tissutale e lo stress ossidativo indotti da una dieta grassa sono in grado di causare disfunzione mitocondriale nel muscolo scheletrico (25).

Il tessuto adiposo (ta) normale e ipertrofico

Meccanismi molecolari

Le ultime due decadi di ricerca clinica e di laboratorio si sono rivelate determinanti per comprendere i meccanismi molecolari che regolano il controllo fine della sazietà e della fame e l'ingestione di cibo coordinato con il consumo di energia. In particolare è stato chiarito il ruolo di alcune adipochine nella regolazione dell'apporto di nutrienti in relazione alla spesa energetica. Le adipochine, prodotte dal tessuto adiposo, svolgono la loro funzione in sincronia con molte altre molecole prodotte a livello gastrico,

intestinale, pancreatico ed epatico e contribuiscono alla regolazione di altre funzioni quali il controllo della pressione arteriosa, della contrattilità cardiaca, dei meccanismi dell'immunità innata e adattativa, dei meccanismi della riproduzione e della massa ossea. L'evoluzione ha decretato che un organismo debba possedere un meccanismo difensivo, una funzione cardiovascolare ed una massa ossea coordinata con l'apporto energetico, con la riserva energetica e quindi in ultima analisi con la massa adiposa. Nel 1994 è stata scoperta la leptina il primo degli ormoni proteici secreti dal tessuto adiposo (TA), cui è seguita la scoperta di molti altri fattori, inizialmente denominati adipocitochine e infine adipochine (26).

Ora il TA è considerato a tutti gli effetti un importante organo endocrino, la cui composizione e funzione non è univoca: in questa rassegna esamineremo il tessu-

to adiposo viscerale (VAT), sottocutaneo (SAT) e quello perivascolare/epicardico.

Inoltre, sono presenti almeno due tipi di adipociti, quelli del tessuto bruno - presente anche nell'adulto - e quelli del tessuto adiposo bianco, diversi tra loro per morfologia e funzione. Nel tessuto adiposo gli adipociti rappresentano solo il 50% dei tipi cellulari, la restante parte è costituita da preadipociti, macrofagi (i più rappresentati dopo gli adipociti), cellule endoteliali, mastociti e linfociti. La composizione del TA può cambiare nel paziente obeso come negli animali da esperimento geneticamente obesi o indotti a diventare tali con una dieta ricca di lipidi. Le alterazioni associate all'obesità riguardano tutte le cellule presenti nel tessuto, in particolare gli adipociti, i preadipociti e i macrofagi. L'obesità è caratterizzata da uno stato di lieve infiammazione cronica rivelata dall'aumento nel sangue circolante di svariati marker (PCR,

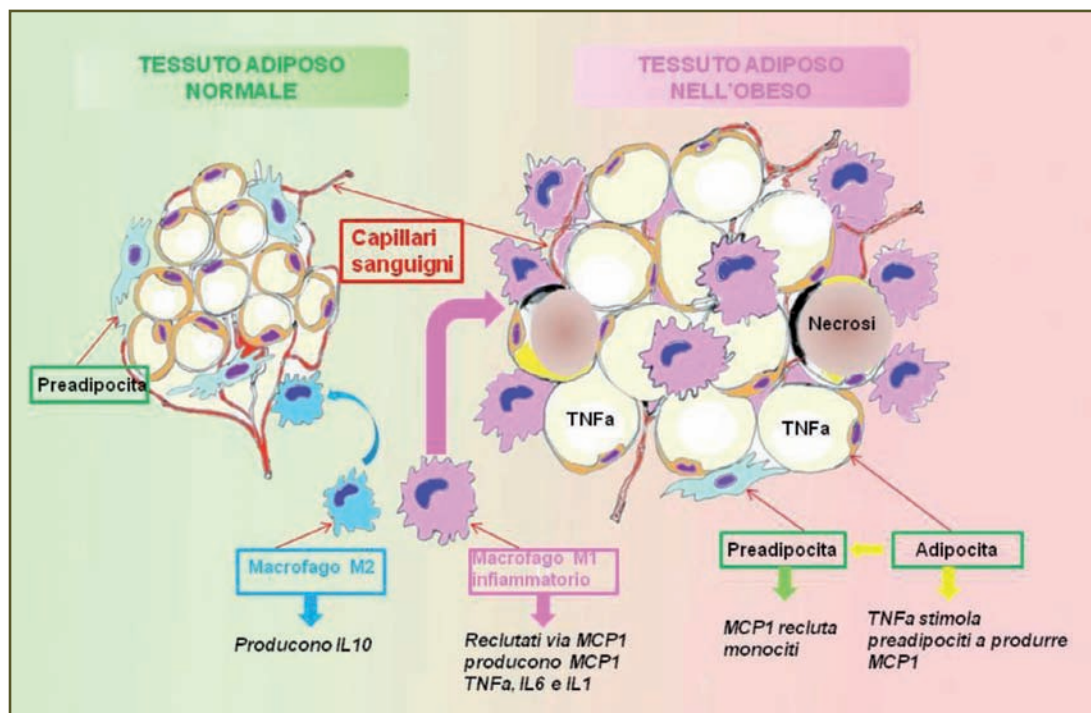


Figura 1 - Caratteristiche del tessuto adiposo normale e del tessuto adiposo nell'obeso.

IL6, MCP-1, PAI-I, TNF α). Inoltre, l'attivazione degli adipociti si associa all'aumento delle cellule infiammatorie, in particolare dei macrofagi residenti, che si differenziano in senso pro-infiammatorio (*Figura 1*).

Il tessuto adiposo dell'obeso è caratterizzato da un processo infiammatorio.

Con il progressivo sviluppo dell'obesità monociti vengono reclutati e attivati a macrofagi con un profilo infiammatorio (M1). Il reclutamento è innescato da basse concentrazioni di TNF α , prodotte dagli adipociti, che stimolano i preadipociti a produrre Monocyte Chemoattractant Protein (MCP1). Anche le cellule endoteliali producono MCP1. Successivamente i macrofagi infiammatori M1 a loro volta produrranno MCP1, auto-mantenendo il reclutamento dei monociti in un circolo vizioso. Inizia un processo angiogenetico che risulta però inefficiente con conseguente ipossia ed eventi necrotici. Il fenotipo pro-infiammatorio dei macrofagi è strettamente associato ad insulino-resistenza.

Il processo infiammatorio, localizzato nel tessuto adiposo viscerale ma con ripercussioni sistemiche, è ritenuto un evento centrale nello sviluppo e progressione delle principali complicazioni cliniche dell'obesità: la sindrome metabolica, il diabete mellito di tipo 2, le malattie cardiovascolari e alcuni tipi di tumore (mammella e colon). I meccanismi che nell'obesità innescano il processo infiammatorio, l'alterazione funzionale degli adipociti e la reazione infiammatoria-immune sono ancora oggetto di speculazione, anche se sono state formulate ottime ipotesi di lavoro (27), suffragate da osservazioni cliniche e da esperimenti in modelli animali. In buona sostanza sono tre i meccanismi che si innescano durante le fasi precoci dell'ipertrofia del TA:

- Il primo è una reazione all'"unfolding" (malpiegamento) proteico che si svi-

luppa nel reticolo endoplasmico, il suo meccanismo di accensione non è noto, ma si ritiene che sia determinante l'intensa sintesi proteica richiesta nell'adipocita ipertrofico. Questa reazione consente di proteggere entro certi limiti il normale avvolgimento delle proteine durante eventi potenzialmente tossici (ipossia, stress ossidativo, mutazioni ecc), che possono indurre unfolding proteico, auto-fagocitosi, apoptosi ed eventualmente necrosi secondaria.

- Il secondo è rappresentato da una condizione ipossica specifica del TA ipertrofico, documentata negli animali da esperimento, nell'uomo e in cellule adipose in coltura (28), probabilmente legata ad un'insufficiente circolazione sanguigna; in questa condizione si attiva negli adipociti e nei macrofagi il fattore HIF-1 α , che dà il via alla trascrizione di molti fattori finalizzati a ristabilire un adeguato apporto di ossigeno e nutrienti. In queste condizioni, sia in modelli sperimentali che nel tessuto adiposo umano bianco viene prodotto VEGF (fattore angiogenetico), che determina un aumento della capillarità e contemporaneamente stimola la produzione di adipochine e di mediatori pro-infiammatori e pro-coagulanti. Alcuni di questi fattori sono prodotti esclusivamente dagli adipociti, altri anche dai macrofagi (TNF α , resistina) in quantità diverse. Si ritiene comunque che la reazione all'evento ipossico non sia sufficiente a ristabilire la normale funzione del tessuto adiposo, per cui molte cellule vanno incontro a morte programmata o necrosi, che a loro volta stimolano l'infiammazione e innescano fenomeni autoimmuni.
- Il terzo evento infine che può determinarsi nel TA ipertrofico e può essere indissolubilmente legato ai primi due

è una reazione immunitaria di tipo adattativo. Sperimentalmente si è visto che nel tessuto adiposo di topi normali sono presenti molti linfociti T regolatori (Treg) che limitano la reazione immune, ma il loro numero viene drasticamente a ridursi in un modello corrispondente di insulino-resistenza con obesità, in cui si verifica uno shift di produzione di citochine da anti-infiammatorio a pro-infiammatorio (29). La presenza di linfociti nel tessuto adiposo ipertrofico è risultato essere un evento molto precoce: in modelli animali di obesità dieta-indotta si osserva una infiltrazione precoce di CD8+ (30) e un calo di CD4+ che precede l'infiltrazione dei macrofagi e ne è una concausa. Usando lo stesso modello si è dimostrata inoltre la presenza di CD4+ clonali con caratteristiche che suggeriscono una loro attivazione antigenica. Queste cellule che secernono citochine Th1 prevalgono sulla funzione dei Treg e dei Th2 (31). Recentemente si è dimostrato inoltre che linfociti splenici di topi con obesità dieta-indotta producono grandi quantità di IL17, una potente citochina pro-infiammatoria la cui concentrazione è correlata positivamente con alcune malattie autoimmuni frequenti nel ceppo di topi esaminato, presenti anche nei pazienti obesi (32). Il tessuto adiposo viscerale del topo è quindi sede di una reazione immunitaria Th1 molto potente, determinata da un clone CD4+ attivo (antigene ignoto), dalla presenza di CD8+ che richiamano i macrofagi e dalla scarsa attività dei Treg. È lecito ipotizzare che uno scenario simile si verifichi anche nel paziente obeso ove si è dimostrato un alto rapporto linfociti Th1/Treg nel tessuto adiposo viscerale ed una intensa produzione di IFN γ (31).

I macrofagi del tessuto adiposo ed i loro prodotti

Nel tessuto adiposo di soggetti magri e di animali normali sono presenti macrofagi residenti, ben caratterizzati in base ad alcune molecole di membrana. Sulla base della distinzione Th1 e Th2 dei linfociti T, anche nei macrofagi viene impiegata la stessa classificazione: i macrofagi M1 sono quelli che sono coinvolti nella risposta Th1, mentre gli M2 attivano la risposta Th2. I macrofagi residenti nel TA di soggetti magri, sono prevalentemente di tipo M2 (33), gli stessi che partecipano ai meccanismi di guarigione, capaci di produrre fattori angiogenetici, citochine anti-infiammatorie (IL10 e TGF β) e indurre la risposta fibroblastica. Il fenotipo di queste cellule sarebbe determinato da una produzione sufficiente di IL4 e di IL13 da parte degli adipociti e dalla presenza di acidi grassi poliinsaturi (34).

La secrezione di adipochine pro-infiammatorie da parte del TA ipertrofico, la morte cellulare, la produzione prevalente di acidi grassi saturi attivano i recettori TLR4 con produzione di citochine pro-infiammatorie capaci di reclutare monociti dal sangue e di attivarli a macrofagi del fenotipo M1, che producono a loro volta altre citochine pro-infiammatorie quali IL1, IL6, TNF α che automantengono la reazione. Come risultato finale, nel TA del paziente/modello obeso vengono reclutati macrofagi del fenotipo M1, pro-infiammatori, capaci di sostenere un processo infiammatorio cronico e di modificare l'insulino-sensibilità degli adipociti e di altre cellule in altri distretti; questi fenomeni non si verificano nel soggetto magro ove i macrofagi di tipo M2, anti-infiammatori, bloccano questa catena di reazioni e proteggono dall'insulino-resistenza (35).

Va detto che il paradigma M1 ed M2, utile dal punto di vista didattico, rispec-

chia solo in parte la complessità del fenomeno: dobbiamo immaginare il fenotipo dei macrofagi come un continuum di cui M1 ed M2 sono gli estremi, in cui adipociti e macrofagi possono mutuamente influenzarsi scaricando nel sangue molte sostanze in grado di estendere lo stato pro-infiammatorio ad altri distretti. È in corso un acceso dibattito sul ruolo svolto in questo contesto dal tessuto adiposo perivascolare/epicardico: alcuni lavori sperimentali mostrano come questo tessuto sia predisposto a sviluppare un importante profilo pro-infiammatorio ad azione diretta sulla parete arteriosa (36), che andrebbe a sommarsi a quella indiretta dovuta al potenziale adipo/citochinico rilasciato nel sangue; all'opposto un lavoro molto recente dimostra come il tessuto adiposo perivascolare conservi i caratteri del tessuto adiposo bruno, nel cui contesto i macrofagi mantengono caratteristiche di tipo M2 anche nell'obeso: in questo caso il tessuto adiposo perivascolare dell'obeso viene visto come un cuscinetto anti-infiammatorio in grado di contrastare il potenziale pro-infiammatorio proveniente dalla circolazione sanguigna (37).

Ruolo dell'immunità nella aterosclerosi

Un ruolo rilevante nella patogenesi dell'aterosclerosi è svolto dall'immunità adattativa e in particolare dai linfociti T (38). In modelli sperimentali in cui i linfociti T e B sono geneticamente deleti si nota una importante riduzione dello sviluppo di ateromi, mentre il trasferimento di linfociti CD4 a questi animali comporta un aumento delle lesioni. Il clone linfocitario coinvolto maggiormente è il Th1: la differenziazione di questa linea linfocitaria richiede la presenza di IL12 prodotta dai

macrofagi, molto rappresentata nella placca; studi recenti suggeriscono anche uno squilibrio tra linfociti Treg (inibitori della risposta adattativa) e Th1.

Oggi si ritiene che il processo immunitario abbia grande rilevanza nelle prime fasi dell'aterosclerosi, in cui l'antigene guida sembra essere la stessa LDL ossidata (oxLDL) e i suoi derivati. I linfociti T attivati possono produrre grandi quantità di citochine che, reclutando e attivando macrofagi, creano un ciclo vizioso in grado di far progredire la lesione. Come è ben noto, le conseguenze più gravi della progressione e dell'instabilità della placca sono la trombosi arteriosa, la formazione di aneurismi e la rottura della parete arteriosa.

L'ipertrofia cardiaca, generalmente da sovraccarico pressorio, è un'altra patologia frequente nell'obesità, la cui patogenesi coinvolge cascate biochimiche ben precise: nel miocardio si riesprimono geni fetali, viene attivata una serin-treonin chinasi importante come mTOR, mentre risulta inibita da AMPK, un'altra chinasi antagonista di mTOR. L'attivazione di mTOR determina un'intensa sintesi proteica con la formazione di nuove miofibrille. Occorre ricordare che ambedue queste chinasi sono coinvolte anche nel controllo della sazietà e dell'appetito, nonché nei processi regolati da adipochine pro- e anti-infiammatorie. Il progredire dell'ipertrofia cardiaca, inizialmente compensativa, evolve nello scompenso.

Adipochine, ruolo metabolico e correlazione con le malattie cardiovascolari

Verranno qui considerate le tre adipochine ad oggi più studiate e di maggiore interesse dal punto di vista clinico: adiponectina, resistina e leptina.

Adiponectina: fisiologia e regolazione della secrezione

L'adiponectina (APN) (39-42) è un ormone di 30 KD con una parte globulare ed una collagen-like, prodotto dal tessuto adiposo, presente nel plasma e capace di aumentare la sensibilità dell'insulina. I livelli plasmatici normali dell'adiponectina, oscillanti tra 2 e 30 µg/ml nell'uomo, sono molto diminuiti nei soggetti obesi. Inoltre la sua concentrazione plasmatica, inversamente correlata con la presenza di diabete e ipertensione in pazienti con malattia coronarica, è stata proposta come fattore di rischio coronarico.

L'ormone si presenta in almeno tre forme oligomeriche, trimero, esamero e ad alto peso molecolare, l'assemblaggio di queste forme è realizzato nel reticolo endoplasmico con l'intervento di altre proteine come DSBA-L (43). La forma ad alto peso molecolare è la più abbondante nel plasma, mentre esamero e trimero sono presenti soprattutto nel liquido cefalo-rachidiano.

L'espressione dell'APN e di DSBA-L è regolata dall'insulina che induce una downregulation (43). L'APN ha due tipi di recettori con funzioni diverse, AdipoR1 e AdipoR2 (43): il primo, espresso ubiquitariamente, presenta un'alta affinità per la parte globulare, attiva la chinasi AMPK ed inibisce la gluconeogenesi; il secondo ha un'elevata affinità per la molecola completa, è espresso principalmente a livello epatico, esita nell'attivazione di AMPK e nell'espressione della proteina disaccoppiante 2 (UCP 2), favorisce l'entrata del glucosio nella cellula e l'ossidazione degli acidi grassi (acil-CoA ossidasi).

L'espressione di ambedue i recettori è regolata dall'insulina. Il suo effetto complessivo consiste nell'aumentare l'ingestione di cibo - anche se su questa azione non tutti sono d'accordo - e ridurre il con-

sumo energetico; nel fegato e nel muscolo induce l'ossidazione degli acidi grassi, ma nel fegato ne limita l'ingresso inibendone l'accumulo, nel tessuto adiposo riduce la lipolisi.

Adiponectina e obesità: meccanismi di downregulation della secrezione

L'obesità comporta un calo nella produzione/secrezione di questo ormone e una maggiore suscettibilità a sviluppare malattie metaboliche e cardiovascolari. Sono molti i meccanismi in grado di spiegare l'azione anti-aterogena dell'adiponectina: l'ormone agisce sui principali protagonisti cellulari dell'aterosclerosi come le cellule endoteliali, i macrofagi e le cellule muscolari lisce (44), inoltre corregge in modo favorevole il rapporto delle lipoproteine plasmatiche.

Quali sono i motivi del paradosso rappresentato dalla sua diminuzione a fronte della ipertrofia del tessuto adiposo e della concomitante ipersecrezione di altre adipochine? Una delle cause più importanti è rappresentata dall'iperinsulinemia, che inibisce l'espressione di questa adipochina e dei suoi recettori; si tratta di evento tardivo, che agisce come fattore di progressione e aggravamento. Più precocemente potrebbe agire l'unfolding proteico che si sviluppa nel reticolo endoplasmico (ER): la grande richiesta di sintesi proteica nell'adipocita ipertrofico e ipossico potrebbe determinare, per motivi non del tutto chiariti, uno stress nel ER con l'intento di proteggere il corretto folding degli oligomeri. Nonostante ciò, l'eccesso di stimolo porta, secondo questa ipotesi, all'unfolding, alla distruzione di proteine unfolded, all'autofagocitosi e alla ridotta secrezione di APN. La riprova sperimentale è rappresentata dal fatto che in modelli animali, inibendo l'autofagocitosi o lo stress nel ER, si favorisce la sintesi di APN (27, 45). È stato infine

proposto che la diminuita produzione e secrezione di APN sia dovuta a citochine pro-infiammatorie che, agendo sull'adipocita, comporterebbero una minore attività del promotore del relativo gene. Una specifica alterazione nella sintesi proteica della sola APN nell'adipocita ipertrofico potrebbe essere verosimile nel caso che il corretto folding di questa proteina in forma multimerica sia particolarmente complesso rispetto alla sintesi e alla secrezione di altre adipochine. La conclusione comunque è che la funzione dell'adiponectina risulta carente nel paziente obeso, con conseguente maggiore suscettibilità a danni renali, epatici e cardiovascolari. Contestualmente, l'iperinsulinemia aggrava lo stato di ipoadiponectinemia creando un circolo vizioso che porta da una parte al blocco dell'azione insulinica, dall'altra alla carenza di funzione di APN.

Adiponectina, macrofagi e cellule endoteliali

APN influenza fortemente la funzione dei macrofagi, favorisce la maturazione dei monociti verso il fenotipo M2, inibisce la secrezione di TNF α indotta da LPS, inibisce l'ingestione di oxLDL e l'accumulo di colesterolo da parte dei macrofagi, aumenta invece la sintesi e la secrezione di IL10 tipica funzione degli M2; resta da spiegare come i macrofagi "in vitro" esposti ad APN presentino un metabolismo ossidativo e possano quindi produrre più radicali liberi (41). In cellule endoteliali in coltura si è dimostrato che APN inibisce in modo significativo l'espressione di molecole di adesione attivate da TNF α (via attivazione di PPAR α), mentre in vivo la concentrazione plasmatica di APN è inversamente proporzionale all'espressione di E selectina (40). Come è noto, le proteine di adesione (VCAM1, ICAM1, selectina E) giocano un ruolo chiave nella migrazione intima dei monociti e la

diminuzione della loro espressione, APN mediata, ne limita la migrazione. Inoltre, APN è angiogenetica in vivo, in coltura stimola la produzione di NO attivando eNOS via AMPK, blocca l'inibizione delle LDL su eNOS e aumenta l'espressione di superossido dismutasi e catalasi via AMPK. Queste azioni di APN limitano il danno in quei tessuti - vascolare, adiposo e renale - che nell'obesità producono maggiori quantità di radicali liberi dell'ossigeno via NOX4. In modo concomitante, APN inibisce il processo di apoptosi delle cellule endoteliali, un evento pro-coagulante, e la produzione di citochine pro-infiammatorie come PCR, IL-1 β e MCP-1 (40). Sulle cellule muscolari lisce (VSMC) APN svolge azione inibitoria sia sulla migrazione che sulla proliferazione, mentre è possibile, sebbene non ancora definitivamente provato, che ne potenzi la produzione di collagene via attivazione di una prolidossilasi (46) (Figura 2).

Nell'uomo la concentrazione di APN è inversamente proporzionale alla pressione sistolica media, alla concentrazione plasmatica di trigliceridi e di LDL piccole e dense e direttamente proporzionale alla concentrazione di HDL colesterolo.

Adiponectina e malattia cardiovascolare: evidenze sperimentali

APN estende la sua influenza pleiotropica anche sulla funzione cardiovascolare, i suoi recettori (AdipoR1 >2) sono espressi sui miocardiociti (41), con meccanismo autocrino e paracrino è in grado in modelli animali di inibire l'ipertrofia cardiaca indotta da sovraccarico pressorio via attivazione di AMPK e si accumula nei siti di danno miocardico. In accordo con queste osservazioni, animali knock out per APN presentano aree infartuali più estese con aumento di apoptosi e di espressione di TNF α . Sempre in modelli animali, la som-

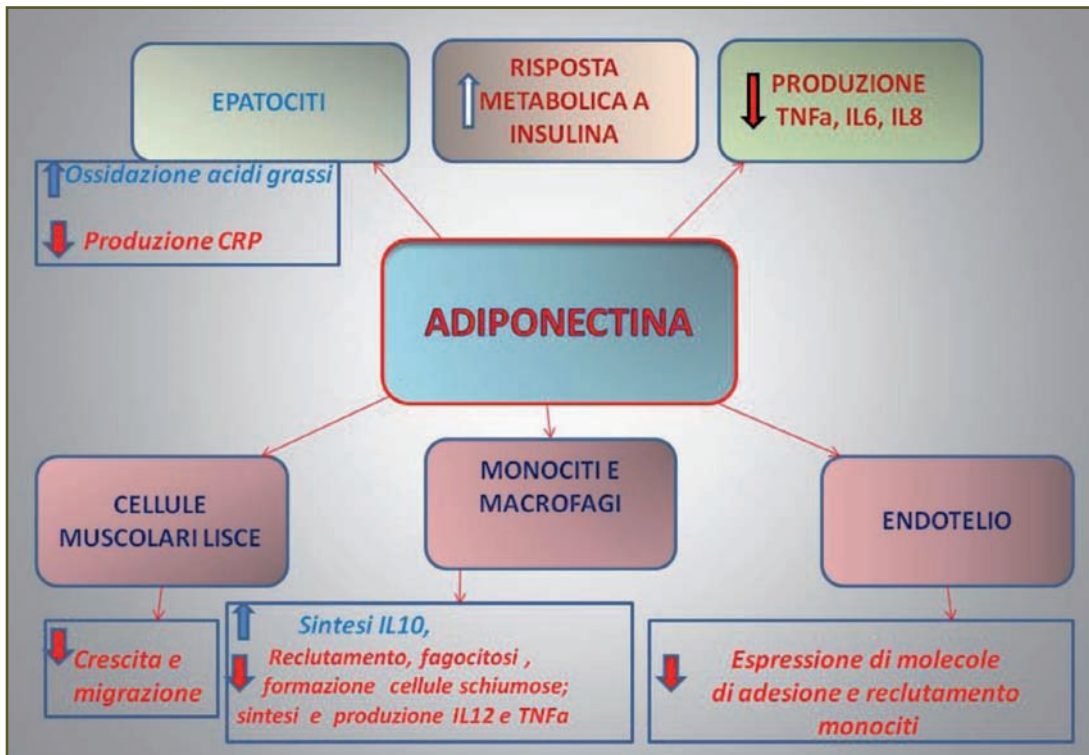


Figura 2 - Funzioni anti-infiammatorie e metaboliche dell'adiponectina.

CRP = proteina C reattiva. Freccia verso l'alto = attivazione; freccia verso il basso = inibizione.

ministrare di APN riduce questi fenomeni, diminuisce la pressione sistolica via eNOS e la sintesi di prostaciclina, mentre l'attivazione di HIF-1 α , mediata dall'ipossia, aumenta l'espressione di APN, migliora la sopravvivenza del miocardio ischemico e la funzione ventricolare. Per quanto attiene alle lesioni di parete, il fatto che APN esogena si colocalizzi con i macrofagi schiumosi a livello di placca suggerisce che sia in grado di modulare il rimodellamento vascolare direttamente piuttosto che con effetto sistemico; le lesioni aterosclerotiche aumentano se il gene AdipoR1 viene deletato nei macrofagi. La carenza di adiponectina nell'obesità è dunque un fattore chiave non solo per la patogenesi dell'obesità stessa, ma anche per la suscettibilità a sviluppare cardiovasculopatie e in particolare aterosclerosi.

Adiponectina e malattia cardiovascolare: evidenze cliniche

Numerosi studi clinici trasversali hanno dimostrato una correlazione inversa tra livelli plasmatici di adiponectina e malattia cardiovascolare, anche dopo correzione per i fattori di rischio tradizionali (47). L'adiponectina è significativamente ridotta nei pazienti con coronaropatia rispetto ai gruppi di controllo, inoltre bassi livelli di adiponectina predicono la comparsa di coronaropatia indipendentemente dagli altri fattori di rischio (47). Nell'ambito degli eventi acuti, pazienti affetti da sindrome coronarica acuta hanno mostrato concentrazioni di adiponectina significativamente ridotte rispetto ai soggetti con angina stabile e al gruppo di controllo (48). L'analisi di regressione multipla ha evidenziato come bassi livelli ematici di adiponectina insie-

me all'abitudine al fumo e alla glicemia a digiuno correlino indipendentemente con lo sviluppo di sindrome coronarica acuta (48); il meccanismo molecolare che lega APN all'evento coronarico acuto va identificato nel suo ruolo di stabilizzazione della placca aterosclerotica. In accordo con queste osservazioni, pazienti con infarto acuto del miocardio mostrano concentrazioni plasmatiche di adiponectina marcatamente ridotte rispetto ai soggetti di controllo non coronaropatici paragonabili per età, sesso e indice di massa corporea (48).

Per quanto riguarda lo scompenso cardiaco, i livelli plasmatici di adiponectina aumentano in funzione della severità dello scompenso stimato con la classe NYHA e correlano con altri biomarcatori di scompenso e di infiammazione, quali Peptide Natriuretico Atriale (BNP) e $TNF\alpha$ (49). In questo setting di pazienti, livelli plasmatici elevati di adiponectina costituiscono un predittore indipendente di mortalità. Nella fase di progressione dello scompenso cardiaco si configura pertanto un effetto paradossale dell'adiponectina, le cui concentrazioni plasmatiche non sembrano svolgere un ruolo protettivo. È stato ipotizzato che questo fenomeno sia dovuto alla ridotta espressione genica dei recettori AdipoR1 a livello del ventricolo sinistro del cuore ischemico, responsabile di una resistenza selettiva all'adiponectina recettore-mediata con conseguente aumento compensatorio dei suoi livelli plasmatici (50).

Resistina

La resistina (RES) è un ormone di 12.5 KD, strutturalmente ricco in cisteina. Il gene ha un promotore complesso, la cui struttura suggerisce controlli e funzioni multiple tessuto specifiche. La RES circola nel plasma sottoforma di vari oligome-

ri, stabilizzati da ponti disolfuro. Scoperta nel topo nel 2000, per la sua capacità di indurre insulino-resistenza è stata ritenuta l'anello mancante tra lo stato di obesità e il diabete. Lo studio dell'analogo umano ha però rivelato che il modello murino non rispecchia la funzione del corrispondente ormone umano.

Infatti mentre nel topo la RES è espressa da adipociti, enterociti, cellule muscolari scheletriche e astrociti, nell'uomo è espressa in misura decrescente da monociti circolanti > preadipociti > adipociti, dove gli adipociti la esprimono solo in tracce. Studi epidemiologici nell'uomo mostrano come vi sia correlazione diretta tra obesità, insulino-resistenza e livelli serici di RES e come la concentrazione plasmatica di RES risulti più elevata in diabetici obesi rispetto a obesi non diabetici; altri studi mostrano invece che il livello di RES può essere ugualmente alto o comunque non differente negli obesi insulinoresistenti e in soggetti magri con sola insulino-resistenza (51).

Sebbene un recettore specifico per RES non sia stato ancora isolato, l'ormone interagisce con il recettore TLR4 di cellule mieloidi ed epiteliali umane (52). Anticorpi anti-TLR4 bloccano la produzione RES-mediata di citochine pro-infiammatorie ($TNF\alpha$, IL6, IL1 β); la RES stimola rilascio di endotelina-1 e aumenta l'espressione di molecole di adesione (VCAM1 e ICAM1) in cellule endoteliali (51).

Resistina macrofagi e cellule endoteliali

RES induce in monociti-macrofagi l'espressione di recettori scavenger che favoriscono l'endocitosi delle LDL ossidate e allo stesso tempo riduce l'espressione del recettore ABCA1, che favorisce l'efflusso di colesterolo dai macrofagi.

Il tessuto adiposo epicardico di pazienti con sindrome coronarica acuta produce

grandi quantità di resistina e influenza “in vitro” la morfologia del monostrato endoteliale, alterandone la permeabilità, con conseguente accumulo di LDL ossidate, aumento dell’adesività e della migrazione sotto-intimale dei monociti (*Figura 3*).

In colture di cellule endoteliali coronariche umane, RES inibisce trascrizione e traduzione di eNOS nonché la produzione di NO, favorendo vasocostrizione e attivazione piastrinica, riduzione dell’attività di superossido dismutasi e catalasi e danno ossidativo. L’immunoreattività di RES è evidente nelle regioni aortiche e coronariche umane interessate da aterogenesi, fatto che suggerisce una sua interazione diretta (come per APN) con la parete vascolare. La biochimica del segnale trasmesso da RES coinvolge le chinasi p38 e JNK, l’attivazione di NFκB e la produzione di ROS

(51); inibire queste vie comporta blocco della produzione di specie reattive dell’ossigeno (ROS) e della down-regulation di eNOS. Un altro effetto di RES è quello di stimolare l’espressione di fattore tissutale in cellule endoteliali coronariche umane e quindi favorire la diatesi trombotica (52). La resistina umana ricombinante ha un effetto angiogenetico, infatti stimola la migrazione, la crescita e la formazione di “capillary tubes” in coltura di cellule endoteliali. Inoltre, la RES umana ricombinante induce crescita delle cellule muscolari lisce di aorta umana e promuove la loro migrazione, inducendo modificazioni citoscheletriche e attivazione di integrine (51).

Resistina aterosclerosi e ipertrofia cardiaca

I dati sperimentali fin qui ottenuti assegnano a RES un ruolo chiave nella patoge-

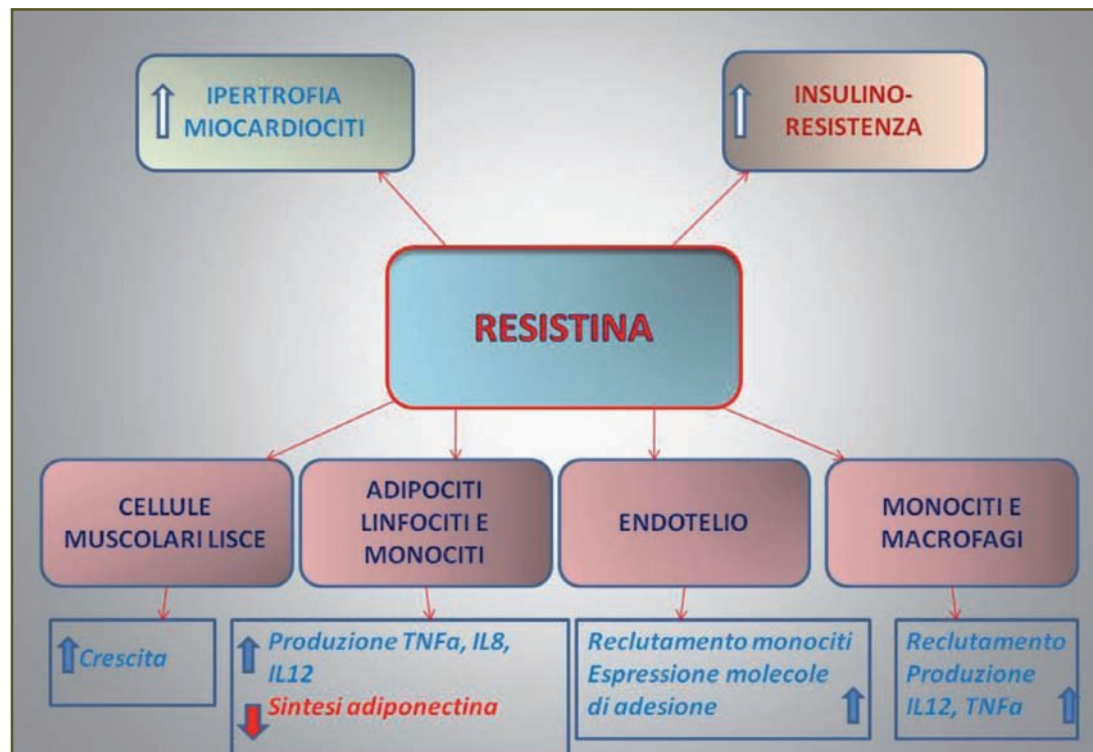


Figura 3 - Funzioni pro-infiammatorie e metaboliche della resistina. Freccia verso l’alto = attivazione; freccia verso il basso = inibizione.

nesi dell'aterosclerosi nel paziente obeso, anche se molti aspetti della sua funzione devono ancora essere chiariti. In ogni caso i dati disponibili suggeriscono per la RES umana, come per quella murina, la capacità di indurre insulino-resistenza e un effetto pro-infiammatorio nei confronti della migrazione intimale di monociti e delle cellule muscolari lisce, effetti esattamente opposti a quelli svolti dall'APN. Recentemente si è dimostrato che IL6, una delle citochine la cui produzione e rilascio è stimolata da RES, ha la proprietà di indurre in co-culture di linee macrofagiche e adipocitarie la produzione di metallo proteasi 1, che da un lato potrebbe favorire il processo angiogenetico nel tessuto adiposo ipertrofico, dall'altro l'instabilità di placca e la sua rottura. C'è uno stretto rapporto tra concentrazione plasmatica di RES e ipertrofia cardiaca: l'iperespressione di RES induce ipertrofia in cardiomiociti di ratto neonato con aumento di fosforilazione di IRS1 e disfunzione contrattile (51), via inibizione di AMPK, attivazione di mTOR e di p70s6k. La fosforilazione di IRS1 sia da parte di JNK che di p70s6k spiega anche l'insulino-resistenza dal momento che questo adattatore non è più utilizzabile nella cascata biochimica attivata dall'insulina (51) (*Figura 3*).

Leptina

La leptina (LEP) è il prodotto del gene *ob* clonato nel 1994; viene prodotta principalmente dal tessuto adiposo bianco, ma anche da tessuti quali la placenta, la mucosa gastrica, il tessuto muscolare scheletrico e l'ipofisi. Le sue concentrazioni plasmatiche, pari a 10-20 ng/ml sono direttamente correlate ai depositi adiposi nell'organismo, perciò in caso di obesità la produzione di leptina è aumentata. La

regolazione della leptinemia è dovuta in parte al numero di adipociti, ma anche ad altri fattori, il principale dei quali è il livello circolante di insulina, che, quando è ridotto, inibisce la sintesi di leptina; questa condizione è tipica dello stato di digiuno in cui la secrezione di leptina, che induce sazietà e riduce l'introito calorico, viene inibita. La maggior parte dei soggetti obesi è iperleptinemica con leptino-resistenza (27). La leptina è implicata nella regolazione del peso corporeo in quanto induce sazietà, inibisce la sensazione di appetito e stimola il dispendio energetico tramite recettori ipotalamici (26, 27). L'ormone riduce l'introito di cibo stimolando la produzione di fattori anoressanti quali il cocaina-amphetamine-related transcript (CART) e aumenta il dispendio energetico sopprimendo neuropeptidi oressigenici quali il neuropeptide Y (NPY). L'attività biologica della leptina è mediata da specifici recettori (Ob-R), che appartengono alla superfamiglia dei recettori di classe 1 delle citochine, codificati dal gene *diabetes* (DB). Lo splicing alternativo del gene *ob* produce multiple isoforme, ma solo l'isoforma lunga *ob-Rb* appare in grado di tradurre il segnale della leptina. Mentre i suoi recettori sono noti, la biochimica della trasduzione del segnale è stata chiarita solo in parte. LEP è un attivatore della AMPK nei tessuti periferici (come adiponectina), una chinasi coinvolta nella funzione cardiaca e protezione del miocardio.

La leptina è un ormone dotato di azioni pleiotropiche: in aggiunta alla regolazione dell'appetito e dell'introito alimentare, è implicata nella regolazione di un gran numero di altre funzioni fisiologiche, quali fertilità, metabolismo osseo, infiammazione e risposta immunitaria (53). Negli anni recenti sono stati fatti importanti progressi per chiarire il ruolo della leptina nell'omeostasi cardiovascolare: essa modula l'an-

giogenesi promuovendo lo sviluppo di neovasi (54) e favorisce la cicatrizzazione dei tessuti; inoltre, ne è stato dimostrato un ruolo importante nel rimodellamento della matrice extracellulare tramite la regolazione delle metalloproteinasi. Alti livelli plasmatici di leptina aumentano il rischio di ipertrofia e scompenso cardiaco e di infarto miocardico (54). Tuttavia in svariati modelli animali la LEP è anti-apoptica, protegge dal danno di ischemia-riperfusion e dall'infarto in quanto previene il danno ipossico nei cardiomiociti.

Leptina, aterosclerosi e ipertrofia cardiaca

Somministrata per lunghi periodi in animali da esperimento, la LEP induce aumento della pressione arteriosa, agisce in modo diretto sulle cellule endoteliali che producono endotelina-1 e angiotensina II e riduce la produzione di NO sia in maniera diretta che indirettamente mediante la sua azione sul sistema nervoso centrale e l'attivazione dell'ortosimpatico. La concentrazione plasmatica di LEP è correlata ai valori pressori anche nell'uomo: soggetti magri ipertesi hanno una concentrazione elevata, mentre negli obesi l'ipertensione spesso si associa a iperleptinemia e leptino-resistenza. Il cuore ha la capacità di produrre da sé la LEP che scarica direttamente nel flusso coronarico con un'azione autocrina e paracrina di cardioprotezione: la LEP limita la lipotossicità da acidi grassi non esterificati e l'accumulo di lipidi nel cuore. Studi sperimentali suggeriscono per LEP un ruolo di promozione del processo aterosclerotico: sperimentalmente il ceppo di topi ob/ob, geneticamente leptino-deficienti, risulta resistente all'aterosclerosi, mentre LEP aumenta direttamente l'aterosclerosi nei topi ApoE^{-/-}. Evidenze epidemiologiche in vivo nell'uomo collegano la concentrazione plasmatica di LEP con la gravità dell'aterosclerosi (75). LEP può indurre ipertrofia

cardiaca via attivazione della MAP chinasi p38, stimolando nel contempo la produzione di matrice extracellulare collagene-specifica da parte dei miocardiociti e di MMP2 in coltura (*Figura 4*). Questa adipochina quindi è in grado di innescare il "remodelling" associato all'ipertrofia e può contribuire a determinare lo stato di scompenso. La complessità del ruolo svolto dalla LEP nella patogenesi dell'ipertrofia cardiaca è confermata dall'osservazione che in alcuni modelli animali la LEP svolge un'azione anti-ipertrofica.

Leptina, macrofagi e linfociti

LEP agisce su molte cellule dell'immunità innata e adattativa (53, 54) (*Figura 4*):

1. Macrofagi: attiva la funzione fagocitica, la secrezione di citochine (TNF α , IL6, IL12), aumenta il numero dei monociti circolanti e l'espressione di molti recettori (CD25, T β R, CD69, HLA-DR, CD11b e CD11c); inoltre nel topo è un potente fattore chemiotattico per i monociti.
2. Linfociti CD4⁺: ne aumenta la crescita e la reazione mista linfocitaria (MLR), promuove lo shift di Th1 e la secrezione di IFN γ e TNF α . Aumenta inoltre l'espressione di recettori VLA2 sui CD4, la sopravvivenza dei linfociti T via NF κ B, bcl2 e bcl-xL e la loro maturazione; la sua deficienza si accompagna ad atrofia timica.

Tutti questi effetti sono normalizzati dalla somministrazione di LEP esogena. LEP è un inibitore della proliferazione dei Treg (CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺), un clone di linfociti che limita la reazione dei Th1 reattivi.

Questi dati ottenuti in modelli animali si accordano con le osservazioni condotte nell'uomo: un aumento della concentrazione plasmatica di leptina nell'uomo si associa alla comparsa di malattie autoimmuni

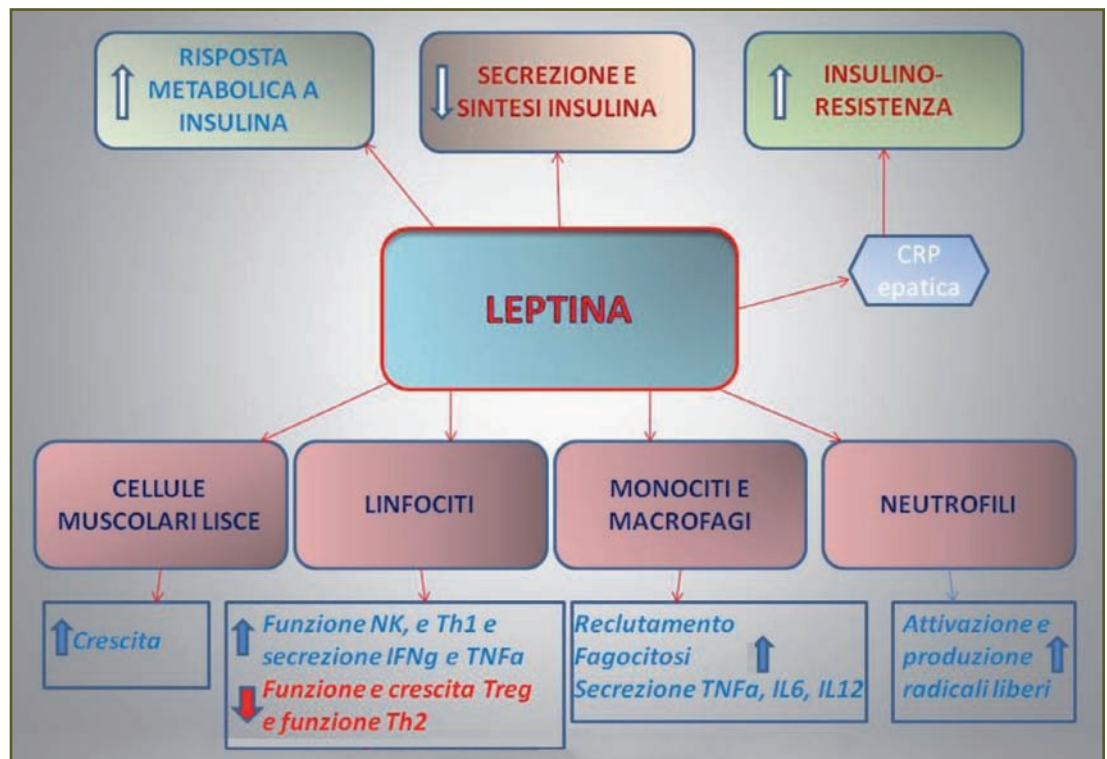


Figura 4 - Funzioni pro-infiammatorie e metaboliche della leptina.

CRP = proteina C reattiva; freccia verso l'alto = attivazione; freccia verso il basso = inibizione.

(es. artrite reumatoide), mentre una condizione di scarsa alimentazione esita in un stato di ipoleptinemia, accompagnato da un aumento della concentrazione di corticosteroidi e da un calo di ormoni tiroidei e di ormone della crescita, compatibile con immunodepressione (53).

In aggiunta, il ceppo di topi ob/ob, geneticamente leptino privi, resiste all'induzione della encefalite sperimentale autoimmune (EAE) (ma anche a glomerulonefrite, colite ed epatite autoimmuni) e conserva la risposta Th2, mentre dopo somministrazione di LEP ritorna la sensibilità all'induzione di EAE (e alle altre malattie sperimentali autoimmuni), sviluppando una risposta Th1. In un altro esperimento topi wild-type in cui viene neutralizzata la funzione di LEP, sono anche protetti dalla EAE.

Riferendosi all'uomo, pazienti con sclerosi multipla mostrano, prima della fase di riacutizzazione, un aumento della concentrazione plasmatica di LEP, la cui espressione appare aumentata in corrispondenza delle lesioni. In questi pazienti l'aumento dell'espressione di LEP si associa alla riduzione dei linfociti Treg. Una correlazione tra iperleptinemia e maggiore suscettibilità alle infezioni virali (diminuisce l'attività NK) è stata dimostrata paradossalmente in topi con obesità indotta da dieta, ma anche in pazienti obesi dove le cellule T possono presentare un recettore desensibilizzato (percezione di ipoleptinemia), un polimorfismo specifico del recettore della leptina o un deficit congenito (29, 30).

La mole di dati ottenuti nell'uomo e nei modelli sperimentali confermano concordemente che una condizione di iperlepti-

Tabella 2 - Attività delle principali adipochine su alcuni aspetti del processo infiammatorio e sulla insulino-resistenza.

	Attività	Endotelio	Fagociti e Linfociti	Produzione Citochine	Insulino-resistenza (IR) e metabolismo
Adiponectina	Anti-infiammatoria	Riduce espressione molecole di adesione	Riduce fagocitosi	Riduce le pro-infiammatorie e aumenta le anti-infiammatorie	Migliora IR; Aumenta entrata glucosio in cellule muscolari e ossidazione NEFA in fegato e muscolo
Leptina	Pro-infiammatoria	Attiva neutrofilii e aumenta produzione ROS	Attiva linfociti Th e inibisce linfociti Treg	Aumenta le pro-infiammatorie	Migliora IR; Aumenta ossidazione glucosio NEFA in fegato e muscolo
Resistina	Pro-infiammatoria	Aumenta espressione molecole di adesione	Nessun dato	Aumenta le pro-infiammatorie e riduce l'espressione di APN	Determina IR; inibisce entrata glucosio in cellule muscolari

nemia si associa ad autoimmunità, mentre uno stato di ipoleptinemia ad una maggiore frequenza di malattie infettive (53, 54).

La leptina quindi è in grado di attivare la risposta immunitaria Th1, proprio quella che svolge un ruolo patogenetico nello sviluppo e nella progressione dell'aterosclerosi.

Un riassunto delle principali azioni di adiponectina, resistina e leptina su infiammazione e insulino-resistenza è riportato in *Tabella 2*.

Leptina, cellule endoteliali, VSMC e complicazioni trombotiche

Oltre alla già citata funzione ipertensiva, la LEP esercita diverse azioni proaterogene, quali la stimolazione alla crescita e migrazione intimale delle VSMC e dei monociti, l'induzione dello stress ossidativo e l'espressione delle molecole di adesione a livello endoteliale. Sull'endotelio la leptina esercita anche un'azione angiogenetica e stimola sia la crescita che la migrazione di queste cellule, facendo esprimere i recettori per il VEGF. Inoltre, la LEP può svolgere una funzione procoagulante mediante l'attivazione dell'aggregazione piastrinica e l'espressione di fattore tissutale. I livelli plasmatici di LEP si correlano nell'uomo

alle complicanze trombotiche dell'obeso. Al contrario, topi ob/ob manifestano un rischio ridotto di trombosi.

In ultima analisi, lo squilibrio nella produzione di adipochine e di citochine dell'obeso con iperleptinemia e resistenza alla leptina, determina le condizioni più favorevoli allo sviluppo di placche aterosclerotiche e dell'ipertrofia cardiaca.

I processi cellulari che vengono influenzati sono (*Figura 4*):

- l'espressione di molecole di adesione endoteliale per la transmigrazione intimale di monociti e la maturazione di queste cellule a macrofagi di tipo M1;
- lo stimolo all'angiogenesi nell'avventizia;
- l'innescio di una risposta immunitaria di tipo Th1 e l'inibizione dell'attività dei linfociti Treg;
- la crescita e la migrazione delle cellule muscolari lisce dalla tonaca media nell'intima;
- l'ipertensione arteriosa;
- lo stato pro-coagulante.

Leptina: studi clinici

La leptinemia risulta in genere più elevata nel sesso femminile, correlata a una attività simpatica più elevata, anche se i meccanismi responsabili sono ancora sco-

nosciuti. Numerose evidenze sperimentali suggeriscono un'associazione tra iperleptinemia/leptino-resistenza, aterosclerosi e malattia cardiovascolare. Studi prospettici hanno dimostrato che i livelli plasmatici di leptina sono più elevati nei soggetti che svilupperanno un infarto miocardico rispetto a quelli di controllo e che un'elevata leptinemia predice la comparsa di eventi coronarici in un follow up di 5 anni (55).

La leptinemia è risultata più elevata nei pazienti che hanno sviluppato restenosi post angioplastica coronarica rispetto a coloro che non l'hanno sviluppata. La leptina è anche un predittore indipendente di stroke emorragico negli uomini, ma non nelle donne (55).

È stata inoltre dimostrata un'associazione diretta tra livelli elevati di leptina e infarto miocardico, anche se la correlazione con l'indice di massa adiposa non è chiara. La leptina è anche un predittore indipendente di infarto miocardico nei pazienti ipertesi. Infine, alcuni studi hanno dimostrato un'associazione diretta tra leptinemia e rischio di sviluppare diabete mellito di tipo 2 (56).

Adipochine come target terapeutico

Le adipochine potrebbero diventare degli ottimi target terapeutici. La somministrazione di adiponectina al topo tenuto a dieta iperlipidica/iperglicidica si accompagna a calo ponderale, riduzione della glicemia e dei trigliceridi plasmatici (57). Un comportamento simile si osserva in vivo nel paziente obeso: il calo ponderale indotto dalla chirurgia bariatrica determina un aumento del 46% dei livelli plasmatici di adiponectina associato a una riduzione del 21% dell'indice di massa corporea. Analogamente, in un gruppo di donne obese in età premenopausale, il calo ponderale

indotto da una dieta ipocalorica associata ad attività fisica determina un aumento dei livelli circolanti di adiponectina. L'espressione dell'adiponectina è regolata da una cascata di eventi innescata dall'attivazione di PPAR γ . Molti studi hanno dimostrato che i tiazolidinedioni, agonisti di PPAR γ , aumentano i livelli plasmatici di adiponectina. In vitro, in adipociti in coltura, agonisti PPAR γ , aumentano l'espressione genica e proteica di adiponectina; in modelli animali di insulino-resistenza la somministrazione di agonisti PPAR γ determina un incremento delle concentrazioni di adiponectina senza alcun effetto sul peso corporeo.

Queste osservazioni sono state confermate in vivo nell'uomo: il trattamento a lungo termine con troglitazone ha determinato un aumento delle concentrazioni plasmatiche di adiponectina sia nei soggetti affetti da diabete tipo 2 che negli obesi non diabetici. Risultati simili sono stati riportati con il rosiglitazone e il pioglitazone. Studi in vitro su colture primarie di macrofagi hanno dimostrato che l'espressione di AdipoR2, uno dei due recettori dell'adiponectina, viene indotta sia dalla stimolazione PPAR α che PPAR γ , a conferma che gli agonisti PPAR α /PPAR γ potrebbero essere utili nell'aumentare i livelli plasmatici dell'adiponectina e nel potenziarne l'azione. Una strategia terapeutica basata su queste osservazioni è considerata promettente nei confronti dell'insulino-resistenza e del diabete di tipo 2, con risvolti positivi nei confronti delle malattie cardiovascolari che complicano il quadro della sindrome metabolica. Anticorpi bloccanti, oligonucleotidi antisense o piccole molecole potrebbero bloccare l'azione della resistina.

Recentemente si è osservato che in un modello in vitro le statine sono in grado di inibire l'espressione di RES indotta da proteina C reattiva. Evidenze cliniche suggeriscono che le statine sono in grado di

influenzare favorevolmente concentrazione e attività di alcune adipochine (58). Di interesse non solo speculativo il fatto che gli acidi grassi poliinsaturi e monoinsaturi riducono l'espressione genica della resistina. Interventi terapeutici volti a modulare il sistema della leptina potrebbero potenzialmente prevenire o ridurre gli eventi cardiovascolari. Studi clinici suggeriscono un'associazione tra iperleptinemia e sviluppo di aterosclerosi e delle sue complicanze.

Tuttavia, non vi è per il momento risposta alla domanda se l'iperleptinemia promuove direttamente l'aterosclerosi nei pazienti obesi. Le evidenze disponibili sono circostanziali, associative e spesso contraddittorie, sovente ottenute con manipolazioni che riducono il signaling della leptina in modelli animali obesi e iperleptinemici.

La modificazione dello stile di vita, nella fattispecie il calo ponderale che segue l'inizio di un regime dietetico ipocalorico, determina una riduzione della leptinemia. Cause comuni di fallimento dei programmi di calo ponderale a lungo termine sono costituite dall'aumento dell'appetito che segue il calo ponderale e dalla leptino-resistenza che caratterizza gli obesi. Il trattamento con leptina ricombinante è stato utilizzato con successo in pazienti affetti da lipodistrofia, grave insulino-resistenza, steatosi epatica e ipertrigliceridemia come risultato dell'eccessiva infiltrazione adiposa nel fegato e nel muscolo (59). La somministrazione di leptina induce un calo ponderale e riduce l'introito calorico in pazienti affetti da forme genetiche di obesità associate a mutazioni del gene della leptina, mentre studi recenti hanno dimostrato che il trattamento con leptina in soggetti affetti da obesità essenziale, in presenza o meno di diabete, ha un effetto variabile sulla modulazione dell'appetito,

ma non induce calo ponderale, né migliora il controllo glicemico.

Poiché i livelli plasmatici di leptina correlano strettamente con l'attività del sistema renina-angiotensina in pazienti affetti da ipertensione essenziale, studi clinici hanno dimostrato che il trattamento con ace-inibitori o bloccanti il recettore AT1 dell'angiotensina II (ramipril, telmisartan ed altri) riduce significativamente i livelli plasmatici di leptina indipendentemente da modificazioni dell'indice di massa corporea (60). Farmaci che modulano l'insulino-resistenza quali la metformina e i glucocorticoidi hanno effetti opposti sulla sintesi e secrezione della leptina. Un problema ulteriore è costituito dal fatto che tutte e tre le adipochine/citochine considerate hanno un profilo pro-angiogenico, utile per stimolare i meccanismi di guarigione, ma dannoso nell'indurre l'instabilità di placca. La conoscenza approfondita del segnale trasmesso dalle adipochine/citochine potrebbe risolvere molti dei problemi collegati ai potenziali effetti negativi ed offrire altri target terapeutici.

Conclusioni

Il calo della concentrazione di adiponectina combinato con l'aumento della leptina e resistina favorisce lo sviluppo della placca e le complicanze dell'aterosclerosi. Tuttavia, evidenze sperimentali ed osservazioni epidemiologiche rendono questo scenario ancora incerto: non sempre gli obesi, soprattutto quelli affetti da obesità ginoide, soffrono di malattie cardiovascolari; inoltre la leptina in alcuni modelli sperimentali risulta cardioprotettiva. Adiponectina, leptina e resistina svolgono tutte una funzione angiogenetica, che è pro-aterogena (54, 55).

Questi dati contraddittori rispetto

Tabella 3 - Altre adipochine/citochine prodotte dal TA.

Adipochina/ citochina	Azione
Vaspina	Insulino-sensibilizzante, anti-aterosclerotica
Visfatina	Induzione di insulino-resistenza, pro-infiammatoria a livello endoteliale
Apelina	Inibizione della secrezione insulinica
Omentina	Regolazione dell'attività insulinica, anti-infiammatoria a livello endoteliale
Lipocalina 2	Insulino-sensibilizzante, antinfiammatoria a livello vascolare
Adipsina	Anti-lipolitica, promuove l'accumulo di trigliceridi
Proteina legante il retinolo 4	Induzione di insulino-resistenza, pro-aterogena
Proteina stimolante l'acilazione (ASP)	Stimola l'accumulo di lipidi
Chemerina	Induzione di insulino-resistenza, anti-infiammatoria a livello endoteliale
Nesfatina 1	Regolazione dell'appetito, dell'introito alimentare e del peso corporeo
TNF α	Proinfiammatoria, stimola la lipolisi, l'insulino-resistenza e l'aterosclerosi
IL6	Pro-infiammatoria, promuove la lipolisi, l'insulino-resistenza e l'aterosclerosi
IL8	Pro-infiammatoria e pro-aterosclerotica
IL10	Anti-infiammatoria e anti-aterosclerotica
MCP-1	Pro-infiammatoria e pro-aterosclerotica

all'ipotesi iniziale indicano che il meccanismo che correla lo stato di obesità con le malattie cardiovascolari non è ancora completamente chiarito. È possibile che per la leptina vi sia un effetto soglia per l'azione cardioprotettiva rispetto all'azione proaterogena e pro-ipertrofica.

È anche possibile che lo squilibrio tra le adipochine/citochine non sia sempre dello stesso grado in pazienti diversi, oppure che riconosca cause differenti (ad es. polimorfismi genetici).

I meccanismi molecolari della trasmissione del segnale per queste tre adipochine non sono ancora del tutto chiariti, ad esempio non è stato ancora identificato il recettore della resistina. Inoltre, molte delle conoscenze acquisite in merito alla rela-

zione adipochine malattie cardiovascolari derivano da esperimenti condotti in modelli animali e devono essere convalidati in vivo nell'uomo. Infine, in questa rassegna abbiamo considerato solo tre delle adipochine/citochine potenzialmente coinvolte nella relazione tra obesità e malattie cardiovascolari. Ne esistono evidentemente molte altre (Tabella 3), la cui funzione deve ancora essere del tutto compresa, ma che potrebbero svolgere un ruolo chiave nel processo aterosclerotico. Solo quando lo scenario sarà completo e la cascata biochimica del tutto compresa potremo intervenire in modo sicuro sui meccanismi che sottendono all'aterosclerosi e alle sue complicanze nel paziente obeso.

GLOSSARIO

TNF α : tumor necrosis factor alpha
IL-6: interleuchina 6
MCP-1: proteina chemiotattica per i monociti
BMI: indice di massa corporea
PCR: proteina C reattiva
NF- κ B: fattore nucleare KB
NAFLD: steatosi epatica non alcolica
NASH: steatoepatite non alcolica
TA: tessuto adiposo
VAT: tessuto adiposo viscerale
SAT: tessuto adiposo sottocutaneo
PAI-1: inibitore I dell'attivatore del plasminogeno
VEGF: vascular endothelial growth factor
Treg: linfociti T regolatori
Th: linfociti T helper
INF γ : interferon gamma
TGF β : transforming growth factor beta
APN: adiponectina
ER: reticolo endoplasmico
VSMC: cellule vascolari muscolari lisce
RES: resistina
LEP: leptina
HIF-1 α : fattore indotto dall'ipossia 1°
PPAR: peroxisome-proliferator-activated-receptor
AMPK: protein chinasi attivata da AMP
NO: ossido nitrico
ENOS: sintetasi endoteliale dell'ossido nitrico
TLR: toll-like-receptor
ICAM1: intercellular adhesion molecule 1
VCAM1: vascular cell adhesion molecule 1

RIASSUNTO

La nota associazione tra obesità e le sue complicanze metaboliche e cardiovascolari ha portato all'identificazione del tessuto adiposo quale minimo comune denominatore sottostante le tre condizioni. Esso secerne una serie di molecole, note come adipochine/citochine, che oltre ad esercitare effetti sistemici a livello metabolico, hanno dimostrato attività indipendente su numerose cellule dell'apparato cardiovascolare, inclusi cardiomiociti e cellule residenti della parete vascolare. L'adiponectina esercita attività antinfiammatoria ed antiaterosclerotica sui vasi, mentre al contrario la resistina ha un effetto pro-infiammatorio e di stimolo alla proliferazione delle cellule muscolari lisce, favorendo così lo sviluppo della placca. La leptina svolge un ruolo importante nel rimodellamento cardiaco che si associa all'ipertrofia e nella regolazione dei valori pressori tramite l'attivazione del sistema simpatico.

In corso di obesità e sindrome metabolica l'ipertrofia del tessuto adiposo conseguente all'accumulo di lipidi, associata all'ipossia, promuove l'infiltrazione macrofagica, che favorisce la produzione di adipochine e citochine proinfiammatorie a scapito di quelle antinfiammatorie. Da questo delicato bilancio dipende non solo lo sviluppo delle complicanze metaboliche associate all'obesità, ma anche di quelle cardiovascolari. In aggiunta alle classiche adipochine trattate in dettaglio in questa rassegna (adiponectina, resistina e leptina), recentemente sono state descritte numerose altre adipochine il cui ruolo nella malattia cardiovascolare è oggetto di studio. Infine, la possibilità di utilizzare le adipochine/citochine quali bersagli terapeutici apre nuovi spiragli non solo nel trattamento delle complicanze metaboliche ma anche di quelle cardiovascolari in corso di obesità.

Parole chiave: *Adipochine, tessuto adiposo, sindrome metabolica, malattia cardiovascolare.*

Bibliografia

1. Lyon CJ, Law RE, Hsueh WA. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. *Endocrinology*. 2003; 144: 2195-200.
2. Northcott JM, Yeganeh A, Taylor CG, Zahradka P, Wigle JT. Adipokines and the cardiovascular system: mechanisms mediating health and disease. *Can J Physiol Pharmacol*. 2012; 90: 1029-1059.
3. Fain JN, Bahouth SW, Madan AK. TNF α release by the nonfat cells of human adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004; 28: 616-622.
4. Moraes-Vieira PM, Bassi EJ, Araujo RC, Câmara NO. Leptin as a link between the immune system and kidney-related diseases: leading actor or just a coadjuvant? *Obes Rev*. 2012; 13: 733-743.
5. Zhao G, Ford ES, Li C, Tsai J, Dhingra S, Balluz LS. Waist circumference, abdominal obesity, and depression among overweight and obese U.S. adults: National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *BMC Psychiatry*. 2011; 11: 130.
6. Progressi delle Aziende Sanitarie per la Salute in Italia (PASSI). <http://www.epicentro.iss.it/passi/default.asp>
7. Vanuzzo D, Pilotto L, Uguccioni M, Pede S, Valagussa F, Gaggioli A, Dima F, LoNoce C, Seccamareccia F, Giampaoli S. Cardiovascular epidemiology: trends of risk factors in Italy *Ital Heart J*. 2004; 5 (Suppl. 8): 19S-27S.
8. Reaven GM. Insulin resistance: the link between obesity and cardiovascular disease. *Med Clin North Am*. 2011; 95: 875-892.
9. Huffman MD, Capewell S, Ning H, Shay CM, Ford ES, Lloyd-Jones DM. Cardiovascular health behavior and health factor changes (1988-2008) and projections to 2020: results from the National Health and Nutrition Examination Surveys. *Circulation*. 2012; 125: 2595-2602.
10. Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA*. 2006; 295: 1549-1555.
11. Carnethon MR, De Chavez PJ, Biggs ML, Lewis CE, Pankow JS, Bertoni AG, Golden SH, Liu K, Mukamal KJ, Campbell-Jenkins B, Dyer AR. Association of weight status with mortality in adults with incident diabetes. *JAMA*. 2012; 308: 581-590.
12. Detournay B, Cros S, Charbonnel B, Grimaldi A, Liard F, Cogneau J, et al. Managing

- type 2 diabetes in France: the ECODIA survey. *Diabetes Metab* 2000; 26: 363-369.
13. Mikhailidis DP, Elisaf M, Rizzo M, Berneis K, Griffin B, Zambon A, Athyros V, de Graaf J, März W, Parhofer KG, Rini GB, Spinass GA, Tomkin GH, Tselepis AD, Wierzbicki AS, Winkler K, Florentin M, Liberopoulos E. "European panel on low density lipoprotein (LDL) subclasses": a statement on the pathophysiology, atherogenicity and clinical significance of LDL subclasses. *Curr Vasc Pharmacol*. 2011; 9: 533-571.
 14. Hari P, Nerusu K, Veeranna V, Sudhakar R, Zalawadiya S, Ramesh K, Afonso L. A gender-stratified comparative analysis of various definitions of metabolic syndrome and cardiovascular risk in a multiethnic U.S. population. *Metab Syndr Relat Disord*. 2012; 10: 47-55.
 15. Bonora E, Kiechl S, Zoppini G, Targher G, Meigs JB, Willeit J, Oberhollenzer F, Bonadonna RC, Muggeo M. Impact of reference category and number of traits in the cluster on risk of coronary heart disease in metabolic syndrome: prospective data from the Bruneck study. *Metab Syndr Relat Disord*. 2011; 9: 313-318.
 16. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004; 114: 1752-1761.
 17. Loh K, Deng H, Fukushima A, Cai X, Boivin B, Galic S, Bruce C, Shields BJ, Skiba B, Ooms LM, Stepto N, Wu B, Mitchell CA, Tonks NK, Watt MJ, Febbraio MA, Crack PJ, Andrikopoulos S, Tiganis T. Reactive oxygen species enhance insulin sensitivity. *Cell Metab*. 2009; 10: 260-272.
 18. Kern PA, Ranganathan S, Li C et al. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001; 280: 45-51.
 19. Achard CS, Laybutt DR. Lipid-induced endoplasmic reticulum stress in liver cells results in two distinct outcomes: adaptation with enhanced insulin signaling or insulin resistance. *Endocrinology*. 2012; 153: 2164-2177.
 20. Barazzoni R, Zanetti M, Cappellari GG, Semolic A, Boschelle M, Codarin E, Pirulli A, Cattin L, Guarnieri G. Fatty acids acutely enhance insulin-induced oxidative stress and cause insulin resistance by increasing mitochondrial reactive oxygen species (ROS) generation and nuclear factor- κ B inhibitor ($I\kappa$ B)-nuclear factor- κ B (NF κ B) activation in rat muscle, in the absence of mitochondrial dysfunction. *Diabetologia*. 2012; 55: 773-782.
 21. Liu X, Yuan H, Niu Y, Niu W, Fu L. The role of AMPK/mTOR/S6K1 signaling axis in mediating the physiological process of exercise-induced insulin sensitization in skeletal muscle of C57BL/6 mice. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1822: 1716-1726.
 22. Brumbaugh DE, Crume TL, Nadeau K, Scherzinger A, Dabelea D. Intramyocellular Lipid Is Associated with Visceral Adiposity, Markers of Insulin Resistance, and Cardiovascular Risk in Prepubertal Children: The EPOCH Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012; 97: E1099-105.
 23. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. 2003; 37: 917-923.
 24. Siegel AB, Zhu AX. Metabolic syndrome and hepatocellular carcinoma. Two growing epidemics with a potential link. *Cancer*. 2009; 115: 5651-5661.
 25. Anderson EJ, Lustig ME, Boyle KE, Wodlief TL, Kane DA, Lin CT, Price JW 3rd, Kang L, Rabinovitch PS, Szeto HH, Houmard JA, Cortright RN, Wasserman DH, Neuffer PD. Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. *J Clin Invest*. 2009; 119: 573-581.
 26. Gautron L, Elmquist JK. Sixteen years and counting: an update on leptin in energy balance. *J Clin Invest*. 2011; 121: 2087-2093.
 27. Myers MG Jr, Heymsfield SB, Haft C, Kahn BB, Laughlin M, Leibel RL, Tschöp MH, Yanovski JA. Challenges and opportunities of defining clinical leptin resistance. *Cell Metab*. 2012; 15: 150-156.
 28. Trayhurn P, Wang B, Wood IS. Hypoxia in adipose tissue: a basis for the dysregulation

- of tissue function in obesity? *Br J Nutr.* 2008; 100: 227-235.
29. Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, Naaz A, Wong J, Nayer A, Lee J, Goldfine AB, Benoist C, Shoelson S, Mathis D. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat Med.* 2009; 15: 930-939.
 30. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M, Otsu M, Hara K, Ueki K, Sugiura S, Yoshimura K, Kadowaki T, Nagai R. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med.* 2009; 15: 914-920.
 31. Winer S, Chan Y, Paltser G, Truong D, Tsui H, Bahrami J, Dorfman R, Wang Y, Zielinski J, Mastrorandi F, Maezawa Y, Drucker DJ, Engleman E, Winer D, Dosch HM. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat Med.* 2009; 15: 921-929.
 32. Winer S, Paltser G, Chan Y, Tsui H, Engleman E, Winer D, Dosch HM. Obesity predisposes to Th17 bias. *Eur J Immunol.* 2009; 39: 2629-2635.
 33. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol.* 2011; 29: 415-445.
 34. Titos E, Rius B, González-Pérez A, López-Vicario C, Morán-Salvador E, Martínez-Clemente M, Arroyo V, Clària J. Resolvin D1 and its precursor docosahexaenoic acid promote resolution of adipose tissue inflammation by eliciting macrophage polarization toward an M2-like phenotype. *J Immunol.* 2011; 187: 5408-5418.
 35. Zeyda M, Stulnig TM. Adipose tissue macrophages. *Immunol Lett.* 2007; 112: 61-67.
 36. Sacks HS, Fain JN. Human epicardial fat: what is new and what is missing? *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2011; 38: 879-887.
 37. Morris DL, Singer K, Lumeng CN. Adipose tissue macrophages: phenotypic plasticity and diversity in lean and obese states. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011; 14: 341-346.
 38. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005; 352: 1685-1695.
 39. El-Mesallamy HO, Hamdy NM, Salman TM, Mahmoud S. Adiponectin and E-selectin concentrations in relation to inflammation in obese type 2 diabetic patients with coronary heart disease(s). *Minerva Endocrinol.* 2011; 36: 163-170.
 40. Okamoto Y, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Libby P. Adiponectin: a key adipocytokine in metabolic syndrome. *Clin Sci (Lond).* 2006; 110: 267-278.
 41. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N. The physiological and pathophysiological role of adiponectin and adiponectin receptors in the peripheral tissues and CNS. *FEBS Lett.* 2008; 582: 74-80.
 42. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2006; 116: 1784-1792.
 43. Saxena A, Chumanovich A, Fletcher E, Larsen B, Lattwein K, Kaur K, Fayad R. Adiponectin deficiency: Role in chronic inflammation induced colon cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1822: 527-536.
 44. Kawanami D, Maemura K, Takeda N, Harada T, Nojiri T, Imai Y, Manabe I, Utsunomiya K, Nagai R. Direct reciprocal effects of resistin and adiponectin on vascular endothelial cells: a new insight into adipocytokine-endothelial cell interactions. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; 314: 415-419.
 45. Zhou L, Liu M, Zhang J, Chen H, Dong LQ, Liu F. DsbA-L alleviates endoplasmic reticulum stress-induced adiponectin downregulation. *Diabetes.* 2010; 59: 2809-2816.
 46. Li L, Cai XJ, Feng M, Rong YY, Zhang Y, Zhang M. Effect of adiponectin overexpression on stability of preexisting plaques by inducing prolyl-4-hydroxylase expression. *Circ J.* 2010; 74: 552-559.
 47. Hui X, Lam KS, Vanhoutte PM, Xu A. Adiponectin and cardiovascular health: an update. *Br J Pharmacol.* 2012; 165: 574-590.
 48. Wilson SR, Sabatine MS, Wiviott SD, Ray KK, De Lemos JA, Zhou S, Rifai N, Cannon CP, Morrow DA; TIMI Study Group. Assessment of adiponectin and the risk of recurrent cardiovascular events in patients presenting with an acute coronary syndrome.

- me: observations from the Pravastatin Or atorvastatin Evaluation and Infection Trial-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 (PROVE IT-TIMI 22). *Am Heart J.* 2011; 161: 1147-1455.
49. Khan RS, Kato TS, Chokshi A, Chew M, Yu S, Wu C, Singh P, Cheema FH, Takayama H, Harris C, Reyes-Soffer G, Knöll R, Milting H, Naka Y, Mancini D, Schulze PC. Adipose tissue inflammation and adiponectin resistance in patients with advanced heart failure: correction after ventricular assist device implantation. *Circ Heart Fail.* 2012; 5: 340-348.
50. Park M, Youn B, Zheng XL, Wu D, Xu A, Sweeney G. Globular adiponectin, acting via AdipoR1/APPL1, protects H9c2 cells from hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis. *PLoS One.* 2011; 6: e19143.
51. Kang S, Chemaly ER, Hajar RJ, Lebeche D. Resistin promotes cardiac hypertrophy via the AMP-activated protein kinase/mammalian target of rapamycin (AMPK/mTOR) and c-Jun N-terminal kinase/insulin receptor substrate 1 (JNK/IRS1) pathways. *J Biol Chem.* 2011; 286: 18465-18473.
52. Jamaluddin MS, Weakley SM, Yao Q, Chen C. Resistin: functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease. *Br J Pharmacol.* 2012; 165: 622-632.
53. Procaccini C, Jirillo E, Matarese G. Leptin as an immunomodulator. *Mol Aspects Med.* 2012; 33: 35-45.
54. Hou N, Luo JD. Leptin and cardiovascular diseases. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2011; 38: 905-913.
55. Khafaji HA, Bener AB, Rizk NM, Al Suwaidi JM. Elevated serum leptin levels in patients with acute myocardial infarction; correlation with coronary angiographic and echocardiographic findings. *BMC Res Notes.* 2012; 5: 262.
56. Könnner AC, Brüning JC. Selective insulin and leptin resistance in metabolic disorders. *Cell Metab.* 2012; 16: 144-152.
57. Gómez R, Lago F, Gómez-Reino JJ, Gualillo O. Novel factors as therapeutic targets to treat diabetes. Focus on leptin and ghrelin. *Expert Opin Ther Targets.* 2009; 13: 583-559.
58. Ohbayashi H. Pitavastatin improves serum resistin levels in patients with hypercholesterolemia. *J Atheroscler Thromb.* 2008; 15: 87-93.
59. Aotani D, Ebihara K, Sawamoto N, Kusakabe T, Aizawa-Abe M, Kataoka S, Sakai T, Iogawa H, Ebihara C, Fujikura J, Hosoda K, Fukuyama H, Nakao K. Functional Magnetic Resonance Imaging Analysis of Food-Related Brain Activity in Patients with Lipodystrophy Undergoing Leptin Replacement Therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Aug 7.
60. Wohl P, Krusinová E, Hill M, Kratochvílová S, Zídková K, Kopecký J, Neskudla T, Pravenec M, Klementová M, Vrbíková J, Wohl P, Mlejnek P, Pelikánová T. Effect of telmisartan on selected adipokines, insulin sensitivity, and substrate utilization during insulin-stimulated conditions in patients with metabolic syndrome and impaired fasting glucose. *Eur J Endocrinol.* 2010; 163: 573-583.