

REVIEW

DALL'OBESITÀ ALLA RESISTENZA INSULINICA: IL RUOLO DEGLI FFA

From obesity to insulin resistance: the role of FFA

CRISTIANO CAPURSO¹, ANTONIO CAPURSO²¹Università degli Studi di Foggia; ²Università degli Studi di Bari

SUMMARY

The first cause leading to insulin resistance and DM is the increase in fat mass and obesity, particularly the intra-abdominal fat accumulation.

Contrary to the previous knowledge that adipogenesis ceases early in the life with a fixed number of adipocytes, fat cells experience a dynamic process of turnover by which mesenchymal cells undergo lineage commitment, pre-adipocyte proliferation and terminal differentiation into mature adipocytes. During positive caloric balance, adipocytes undergo initial hypertrophy, which elicits cellular signaling for the recruitment, proliferation and differentiation of new fat cells. If new adipogenesis is impaired, as is the case of metabolic syndrome, existing fat cells undergo excessive hypertrophy causing pathogenic adipocytes and adipose tissue endocrine and immune responses.

Preferential site of fat accumulation is the abdominal- perivisceral region due to specific characteristics of this fat, particularly an excess of glucocorticoid activity which promote accumulation of adipose tissue. Moreover, visceral adipose tissue adipocytes is more metabolically active and more sensitive to lipolysis, due to increased number and activity of $\beta 3$ -adrenoceptors and, partly, to a reduced activity of $\alpha 2$ -adrenoceptors. As a consequence, more FFA are released into the portal system. Finally, the density of insulin receptors in visceral adipose tissue is lower than in subcutaneous adipose tissue and this makes the abdominal visceral adipose tissue more sensitive to lipolytic stimuli than subcutaneous fat and less sensitive to the inhibitory action of insulin and consequently more insulin-resistant.

The obese adipose tissue is characterized by inflammation and progressive infiltration by macrophages as obesity develops. According to a proposed timing of adipose tissue inflammatory steps in obesity, hypertrophic adipocytes begin to secrete low levels of TNF- α , which stimulates preadipocytes and endothelial cells to produce MCP-1 responsible for attracting macrophages to adipose tissue. Secretion of numerous cytokines and adipokines by adipose tissue has led to the view that obese individuals are characterized by a state of chronic low-grade inflammation, and that this links causally to the insulin resistance, hyperlipidaemia and the metabolic syndrome.

Insulin signaling is prompted through phosphorylation of tyrosine residues in several substrate, starting from autophosphorylation of the β -subunit of insulin receptor and of IRS 1-4. The stop signaling for insulin receptor comes: a) from insulin itself as negative feedback, or: b) by other factors, particularly excess of circulating FFA or TNF- α . These substrates activate a mechanism of serine phosphorylation of IRS 1-2, which is responsible for IRS-1 blocking and for the occurrence of insulin resistance through interrupting IRS/insulin receptor interaction and promoting IRS-1 protein degradation.

Also TNF- α inhibits insulin receptor activity. The inhibitory effect of TNF- α on insulin signaling is mediated by a double mechanism of serine-phosphorylation and tyrosine-dephosphorylation of IRS-1 leading to its inactivation and degradation, and subsequent stop signaling for insulin receptor.

Keywords: Obesity, Insulin receptor, FFA, Insulin resistance, Metabolic syndrome, Diabetes mellitus.

Introduzione

L'obesità, una concreta minaccia della salute della popolazione mondiale, è una condizione patologica correlata con numerose malattie metaboliche. Solo negli Stati Uniti il 66% degli adulti è sovrappeso ed il 32% è francamente obeso (1). Nei paesi occidentali l'obesità è in genere correlata con uno stile di vita sedentario e con l'invecchiamento.

La condizione patologica che più frequentemente si associa all'eccesso di adipi, particolarmente l'eccesso di adipi in sede addomino-viscerale, è la "Sindrome Metabolica", una costellazione di problemi fisiopatologici che comprende l'obesità viscerale, l'insulino-resistenza, l'alterato metabolismo del glucosio o il diabete mellito franco, l'ipertensione arteriosa e una forma di dislipidemia aterogena, cui spesso si associa anche uno stato protrombotico e pro-infiammatorio ed una condizione di steatosi epatica non alcolica (NAFLD) (2-4). Ciascuno di questi fattori determina un significativo aumento del rischio di cardiopatia ischemica e di stroke (5-7).

Nell'ambito di questi problemi metabolici, l'insulino-resistenza è senza dubbio il problema metabolico più importante connesso all'eccesso di adipi e che determina pressoché costantemente l'insorgenza del diabete mellito tipo 2.

L'insulino-resistenza è definita una inadeguata risposta degli organi-target dell'insulina (muscolo striato, fegato e tessuto adiposo) agli effetti fisiologici dell'insulina. Le conseguenze di questa riduzione della sensibilità insulinica sono:

- 1) ridotta captazione insulino-mediata di glucosio nel muscolo striato;
- 2) ridotta inibizione insulino-mediata della produzione di glucosio da parte del fegato;
- 3) una significativa riduzione della capaci-

tà dell'insulina di inibire la lipolisi del tessuto adiposo.

La causa primaria dell'insorgenza della resistenza insulinica e del diabete mellito è senza dubbio l'aumento della massa grassa, particolarmente a livello addomino-periviscerale (8).

Verranno ora considerati:

- a) i meccanismi fisiopatologici legati all'adipogenesi e all'accumulo di adipi;
- b) le conseguenze dell'aumentata lipolisi e dell'eccesso di acidi grassi liberi (FFA) circolanti sull'attività del recettore insulinico.

Adipogenesi e accumulo di tessuto adiposo

Il tessuto adiposo è formato da adipociti che rappresentano la quasi totalità delle cellule di questo tessuto. Gli adipociti sono circondati da tessuto connettivo, collagene, nervi e vasi sanguigni. La fine impalcatura che sostiene il tessuto adiposo contiene anche cellule della frazione vascolare stromale rappresentate da cellule staminali mesenchimali, fibroblasti, preadipociti, precursori di cellule endoteliali, cellule muscolari lisce, cellule del sangue e cellule immunitarie (9-11).

Le cellule staminali mesenchimali presenti nel tessuto adiposo, di derivazione mesodermica, possono differenziarsi in mioblasti, osteoblasti, condroblasti, tenoblasti, cellule stromali midollari, cellule simil-neuronali, ma soprattutto in cardiomiociti, angiociti e adipociti. Per la loro comune origine embrionale, i depositi di grasso in sede perivascolare ed epicardica-pericardica condividono pertanto le stesse caratteristiche metaboliche ed infiammatorie del grasso addomino-periviscerale (12). Contrariamente a quanto si pensava in passato, cioè che l'adipogenesi

cessa precocemente dopo la nascita, per cui il numero degli adipociti resta stabile e fisso, è stato invece osservato che gli adipociti vanno incontro ad un continuo *turnover* dinamico con una linea cellulare di cellule mesenchimali programmata verso i preadipociti, che proliferano ed evolvono in adipociti maturi (11). È stato calcolato che ogni anno il 10% delle cellule adipose adulte va incontro a turnover, cioè ad un vero e proprio ricambio, in modo del tutto indipendente dall'indice di massa corporea, cioè sia in soggetti magri che grassi (13).

In fase di bilancio calorico positivo, gli adipociti vanno incontro inizialmente ad ipertrofia, fenomeno che innesca un segnale cellulare per il reclutamento, proliferazione e differenziazione di nuove cellule adipose. Se questa neo-adipogenesi da pre-adipociti è bloccata, come avviene nella sindrome metabolica, l'impossibilità di depositare e conservare questo eccesso energetico in adipociti neoformati determina la neodeposizione di grasso negli adipociti esistenti, provocandone una notevole ipertrofia; ne consegue una profonda disfunzione di questi adipociti che mettono in atto risposte endocrine ed immunologiche (14). La mancata proliferazione e differenziazione delle cellule adipose del sottocutaneo oltre che indurre una eccessiva ipertrofia e disfunzione degli adipociti esistenti favorisce la deposizione di grasso anche in sedi ectopiche, cioè in sede intra-addominale, in sede perimuscolare e perivascolare, in sede pericardica e periostale (15). Il grasso pericardico e perivascolare può avere effetti patogeni diretti sul miocardio, sulle coronarie e sui vasi periferici, poiché determina una abnorme secrezione locale di fattori vasoattivi e proinfiammatori che favoriscono l'instabilità delle lesioni ateromasiche e altri problemi cardiovascolari.

L'accumulo di grasso periviscerale

Per definizione la sindrome metabolica è caratterizzata da un accumulo primario di tessuto adiposo in regione addominale e periviscerale. Il tessuto adiposo viscerale (VAT) si localizza primariamente intorno all'intestino, nel mesentere, nell'omento, nelle regioni perirenali e drena i suoi prodotti direttamente al fegato attraverso il circolo portale. Anche se la complessa fisiopatologia del VAT non è stata ancora completamente chiarita, è comunque noto che gli adipociti del VAT sono metabolicamente molto più attivi, più sensibili alla lipolisi e più insulino-resistenti rispetto agli adipociti del tessuto adiposo sottocutaneo (SCAT). Per contro, gli adipociti SCAT sono molto più avidi di FFA circolanti, che essi captano in grande quantità trasformandoli in trigliceridi che vengono poi depositati al loro interno (16).

Contrariamente a quanto accade agli adipociti SCAT, l'attività metabolica degli adipociti VAT è fortemente regolata da alcuni suoi peculiari componenti fisico-chimici, particolarmente l'elevato numero di recettori glucocorticoidei e β -adrenergici e il ridotto numero di recettori insulinici (IR).

I recettori dei glucocorticoidi

L'accumulo di tessuto adiposo è regolato in larga misura dagli ormoni steroidei. Gli ormoni glucocorticoidi, soprattutto il cortisolo, promuovono l'accumulo di tessuto adiposo in sede intra-addominale (17). È stato infatti dimostrato che il VAT va incontro ad un accumulo sia relativo che assoluto di adipe perché contiene un cospicuo numero di recettori dei glucocorticoidi, di ben quattro volte superiore rispetto al SCAT (17).

Il progesterone, al contrario, agisce da antagonista del recettore per i glucocorti-

coidi bloccando quindi l'attività glucocorticoidea nel tessuto adiposo. Questi dati suggeriscono che nella pre-menopausa il progesterone protegge le donne dall'accumulo di grasso intra-addominale promosso dal cortisolo. Per contro, donne in post-menopausa e uomini, entrambi con bassi valori di progesterone, subiscono l'effetto metabolico del cortisolo sulla deposizione di VAT e manifestano in età adulta-senile una tendenza ad accumulare grasso preferenzialmente in regione addominale e periviscerale. L'accumulo di VAT è anche ascrivibile ad altri effetti dei glucocorticoidi, quali l'aumento dell'appetito, l'aumento degli adipociti differenziati (maturi) e la riduzione della proliferazione degli adipociti, tutti effetti indotti dai glucocorticoidi (18). Pertanto, in una tale situazione metabolico-ormonale, la massa di VAT tende ad aumentare significativamente e gli adipociti del VAT tendono a diventare spiccatamente ipertrofici (19).

Recettori adrenergici β_3 e α_2

Il processo di mobilizzazione del grasso dagli adipociti avviene mediante idrolisi dei trigliceridi depositati negli adipociti e successiva immissione in circolo dei prodotti dell'idrolisi cioè degli acidi grassi liberi (FFA o NEFA). L'ormone-chiave di tale idrolisi è una lipasi intracellulare, la *lipasi ormono-sensibile* (HSL), una proteina ormonale particolarmente sensibile alle catecolamine, adrenalina e noradrenalina. Sulla lipolisi, le catecolamine possono esercitare un duplice effetto:

- a) accelerare la lipolisi quando esse interagiscono con i recettori β_3 -adrenergici,;
- b) rallentare la lipolisi quando invece interagiscono con i recettori α_2 adrenergici.

Sia nell'uomo che nella donna, la risposta lipolitica alla noradrenalina, che interagisce con entrambi i recettori, β_3 e α_2 , è molto più marcata a livello del grasso vi-

scerale che non a livello del grasso femorale e gluteale (20). È stato osservato che gli adipociti del grasso viscerale di soggetti obesi sono particolarmente sensibili allo stimolo noradrenergico mediato dal recettore β_3 , stimolo che determina una marcata risposta lipolitica (21).

Gli adipociti del grasso viscerale quindi posseggono una spiccata sensibilità del recettore β_3 adrenergico ed una sua aumentata affinità per la noradrenalina (21). Il notevole aumento della attività β_3 -adrenergica nel VAT è tuttavia legato anche al notevole incremento del numero di tali recettori nei soggetti obesi. Tuttavia, oltre che all'aumentata attività dei recettori β_3 -adrenergici, l'aumentata lipolisi degli adipociti viscerali dipende, sebbene in misura minore, anche da una ridotta attività dei recettori α_2 adrenergici, antilipolitici. La conseguenza di tutto ciò è che nel circolo portale dei soggetti obesi si ha un iperafflusso di FFA, cioè una vera e propria "inondazione portale" di FFA.

I recettori insulinici

Il numero dei recettori insulinici è molto più basso nel tessuto adiposo viscerale (VAT) rispetto al tessuto adiposo sottocutaneo (SCAT), per cui il tessuto adiposo addomino-viscerale risulta essere molto più sensibile agli stimoli lipolitici noradrenergici e assai meno sensibile agli effetti anti-lipolitici dell'insulina, rispetto al tessuto adiposo sottocutaneo (22). L'insulina, quindi, inibisce la lipolisi in via preferenziale ed in maniera assai più efficace nel più "insulino-sensibile" tessuto adiposo sottocutaneo, lasciando in tal modo il tessuto adiposo viscerale molto più esposto all'azione delle catecolamine (19). Altri fattori tuttavia intervengono nel ridurre la funzione metabolica dei recettori insulinici del VAT, quali la cronica elevazione degli FFA circolanti e l'azione di alcune

citochine infiammatorie, particolarmente il TNF- α .

L'aumentata produzione e liberazione di FFA da parte del VAT, essenzialmente legata all'eccesso di lipolisi promosso dall'aumentata attività locale dei recettori β_3 adrenergici, ha un ruolo cruciale nell'avvio della disfunzione del recettore insulinico del VAT e nella conseguente insorgenza di resistenza insulinica primariamente nel VAT.

Verranno descritti ora i meccanismi dell'accumulo di tessuto adiposo viscerale, l'infiammazione "low grade" di questo tessuto adiposo, la struttura e la funzione del recettore insulinico e gli effetti degli FFA e del TNF- α sulla attività del recettore insulinico.

L'infiammazione "low grade" del tessuto adiposo

Per definizione, il tessuto adiposo del soggetto obeso è caratterizzato da un latente stato di infiammazione cronica, la "low grade inflammation" e da una infiltrazione di macrofagi che aumenta col progredire dell'obesità.

Il tessuto adiposo, lungi dal rappresentare un mero deposito energetico, possiede anche importanti funzioni endocrine per cui secreta numerosi ormoni, fra cui particolarmente la Leptina, la Adiponectina e l'MCP-1 (*Monocyte Chemoattractant Protein-1*), oltre a numerosi altri fattori proteici denominati adipocitochine o più brevemente adipochine. Questo insieme di adipochine, l'*Adipokinoma*, comprende anche proteine che intervengono nel metabolismo lipidico, nella sensibilità insulinica, nel sistema del Complemento, nell'ipertensione arteriosa e nell'angiogenesi, e comprende anche un cospicuo numero di citochine infiammatorie [TNF α ,

interleuchina (IL)-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TGF- β (Transforming Growth Factor- β), NGF (Nerve Growth Factor)], e fattori della risposta della fase acuta [PAI-1 (*Plasminogen Activator Inhibitor-1*), Aptoglobina e SAA (*Serum Amyloid A*)] (11, 23).

L'aumento della sintesi e dei livelli circolanti di queste adipochine e citochine infiammatorie nei soggetti obesi ha portato a concludere che il tessuto adiposo dei soggetti obesi è affetto da uno stato infiammatorio cronico latente (*low grade inflammation*) che a sua volta è responsabile dell'insorgenza di insulino-resistenza, di iperlipidemia e della Sindrome Metabolica (23-25). Lo sbilancio che si determina fra adipochine pro- ed anti-infiammatorie nel grasso addomino-periviscerale del soggetto obeso contribuisce in modo determinante all'insorgenza di molti aspetti della Sindrome Metabolica (26, 27).

Un aspetto interessante di questo profilo infiammatorio è che esso viene attivato e ha luogo esclusivamente nel tessuto adiposo (28, 29). Tuttavia, mentre si conosce bene il ruolo degli adipociti nei processi metabolici, ancora poco si conosce del ruolo degli adipociti nella infiammazione. Molti dati hanno dimostrato che il tessuto adiposo del soggetto obeso è marcatamente infiltrato da macrofagi, che mostrano di partecipare attivamente al processo infiammatorio nel tessuto adiposo (30-32).

In animali da esperimento è stato osservato che i geni che presiedono la sintesi e la secrezione di quei fattori che attraggono macrofagi nel tessuto adiposo e che danno origine all'infiammazione sono espressi nel tessuto adiposo del soggetto obeso assai prima della comparsa dell'insulino-resistenza, il che confermerebbe che i macrofagi sono una importante fonte di infiammazione del tessuto adiposo, connessa alla resistenza insulinica (30-32).

La maggior parte di questi macrofagi

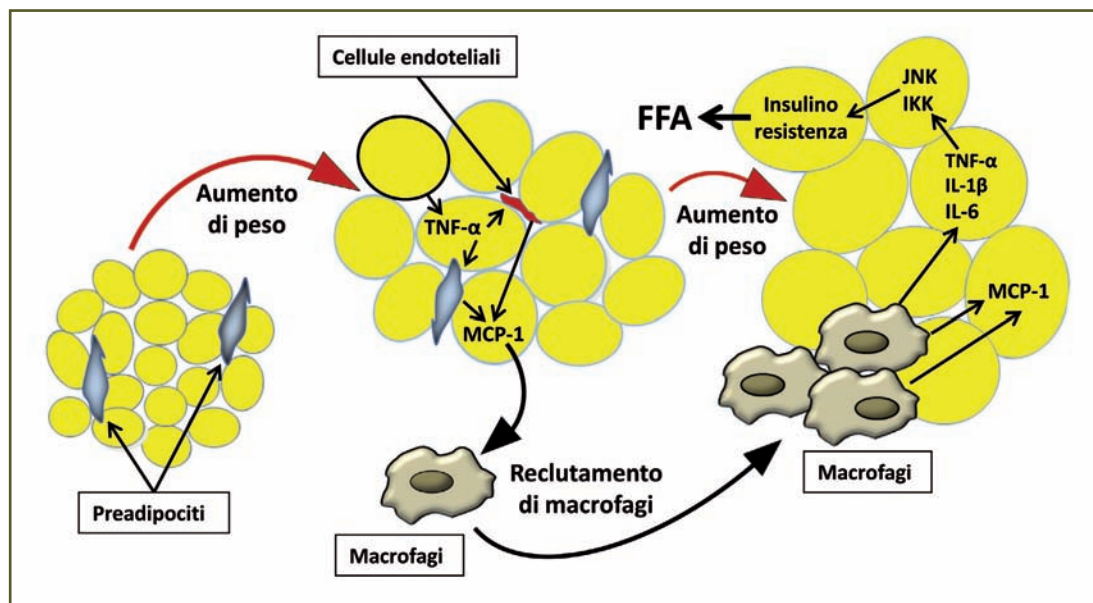


Figura 1 - Il tessuto adiposo del soggetto obeso è caratterizzato da un latente stato infiammatorio (low grade inflammation) e da una infiltrazione di macrofagi, fenomeni che aumentano progressivamente col progredire dell'obesità. Vi è unanime accordo sul dato che il tessuto adiposo del soggetto obeso è infiltrato da macrofagi che partecipano attivamente all'instaurarsi di una condizione infiammatoria del tessuto adiposo stesso. Nella cronologia degli eventi, gli adipociti ipertrofici iniziano a secernere piccole quantità di TNF- α , che stimola i preadipociti a secernere a loro volta MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1) (31). Anche le cellule endoteliali, stimolate dal TNF- α , secernono MCP-1. Quindi, preadipociti e cellule endoteliali, secernendo attivamente MCP-1, sono i responsabili primari della iniziale infiltrazione di macrofagi nel tessuto adiposo. Una volta penetrati nel tessuto adiposo ed attivatisi localmente, i macrofagi, in sinergia con gli adipociti e ad altre cellule innescano e perpetuano un circolo vizioso di reclutamento di altri macrofagi, di produzione di citochine infiammatorie e di compromissione delle funzioni degli adipociti. Le citochine infiammatorie IL-6, IL-1 β e TNF- α attivano le serin-kinasi JNK e IKK, che promuovono la serin-fosforilazione di IRS-1 (serina 307-312). La serin-fosforilazione di IRS-1 è responsabile della disattivazione di questo complesso, del suo distacco dal recettore insulinico e del conseguente blocco funzionale del recettore insulinico e della trasmissione del segnale insulinico stesso. Questo meccanismo molecolare promuove l'insulino-resistenza negli adipociti ed ha inizio nel tessuto adiposo peri-viscerale.

che infiltrano il tessuto adiposo è di origine midollare (30).

La tempistica della infiammazione del tessuto adiposo (*Figura 1*) inizia con l'ipertrofia degli adipociti che, in tale anormale condizione anatomica e metabolica, cominciano a secernere TNF- α che, a sua volta, stimola i preadipociti a secernere MCP-1 (31). Anche le cellule endoteliali subiscono lo stimolo del TNF- α e secernono MCP-1. Pertanto, preadipociti e cellule endoteliali, secernendo in via primaria

MCP-1, attraggono attivamente macrofagi nel tessuto adiposo (*Figura 1*).

Con l'aumento della massa adiposa, numerosi altri fattori concorrono poi nello stimolare il reclutamento, l'adesione e l'infiltrazione di nuovi macrofagi nel tessuto adiposo:

a) l'aumentata secrezione di Leptina e la ridotta secrezione di Adiponectina stimola il reclutamento di macrofagi (33) e la loro adesione alle cellule endoteliali (34).

- b) la condizione di iperinsulinemia concorre in modo determinante nel reclutamento e adesione di monociti-macrofagi da parte delle cellule endoteliali, attraverso una aumentata produzione di VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule -1*) (35).
- c) il danno endoteliale causato dall'aumento dello "shear stress" o dal danno ossidativo indotto dall'aumento degli FFA circolanti favorisce anch'esso il reclutamento di macrofagi, in modo analogo a quanto avviene nell'aterosclerosi.
- d) anche l'aumentata espressione da parte del tessuto adiposo di un altro fattore, il "receptor chemokine (C-C motif) receptor (CCR)-2", risulta coinvolta nel reclutamento di monociti-macrofagi da parte del tessuto adiposo (36).

Qualunque sia il fattore causale iniziale, i macrofagi che infiltrano il tessuto adiposo, in sinergia con gli adipociti ed altre cellule locali, perpetuano il circolo vizioso del reclutamento di nuovi macrofagi e di secrezione di citochine infiammatorie, che a loro volta perpetuano la grave disfunzione degli adipociti.

L'attività del recettore insulinico

Per comprendere il ruolo degli FFA e di altri fattori nell'instaurarsi dell'insulino-resistenza occorre considerare la struttura del recettore insulinico e la sua attività metabolica (*Figura 2*).

Il recettore insulinico che fa parte della grande famiglia dei recettori "tirosin-chinasi", è un recettore trans-membrana attivato dall'insulina (37). Il recettore insulinico è una proteina etero-tetramerica formata da una coppia di due sub-unità in posizione extracellulare, le " α -subunits", e una coppia di due sub-unità in posizione

transmembrana, le " β -subunit" (38). Queste sub-unità sono connesse fra loro da ponti sulfidrilici. I recettori "tirosin-chinasi", dei quali appunto fa parte il recettore insulinico, svolgono la loro attività determinando l'acquisizione di un gruppo fosforico da parte di residui tirosinici presenti in determinati substrati proteici all'interno della cellula. Quando l'insulina si lega al recettore insulinico, il primo substrato ad essere fosforilato dal segnale insulinico è la " β -subunit" transmembrana della recettore insulinico stesso, con un meccanismo di autofosforilazione (38). Questa preliminare autofosforilazione del recettore insulinico serve ad attivare determinati siti di ancoraggio sulla " β -subunit" che legano altri substrati, innanzitutto il complesso IRS 1-4 (*insulin receptor substrate 1-4*). Pertanto il "binding" extracellulare dell'insulina al recettore insulinico induce il "binding" intracellulare del complesso IRS 1-4 alla sub-unità β (β -subunit) del recettore insulinico, a livello dei domains "src homology 2" (SH2).

Con l'ancoraggio del complesso IRS al recettore insulinico, numerosi residui tirosinici del complesso IRS vengono a loro volta fosforilati attraverso una reazione di fosforilazione che si propaga a cascata. I complessi proteici IRS-1 e 2, una volta fosforilati, fungono essi stessi da ancoraggio per altri substrati proteici intracellulari contenenti il domain SH2. In questo modo, il complesso IRS 1 diventa un attivatore di molte protein-chinasi che hanno funzioni di "segnale di sistema". Fra queste protein-chinasi la più importante è la fosfatidilinositol-3-fosfato (PI3K = *phosphatidylinositol-3-kinase*) (*Figura 2*) che converte il fosfatidilinositol 3,4 bifosfato [PI(3,4)P2] in fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato [PI(3,4,5)P3]. Questi nucleotidi servono per ancorare sulla superficie della membrana plasmatica altre protein-chinasi si-

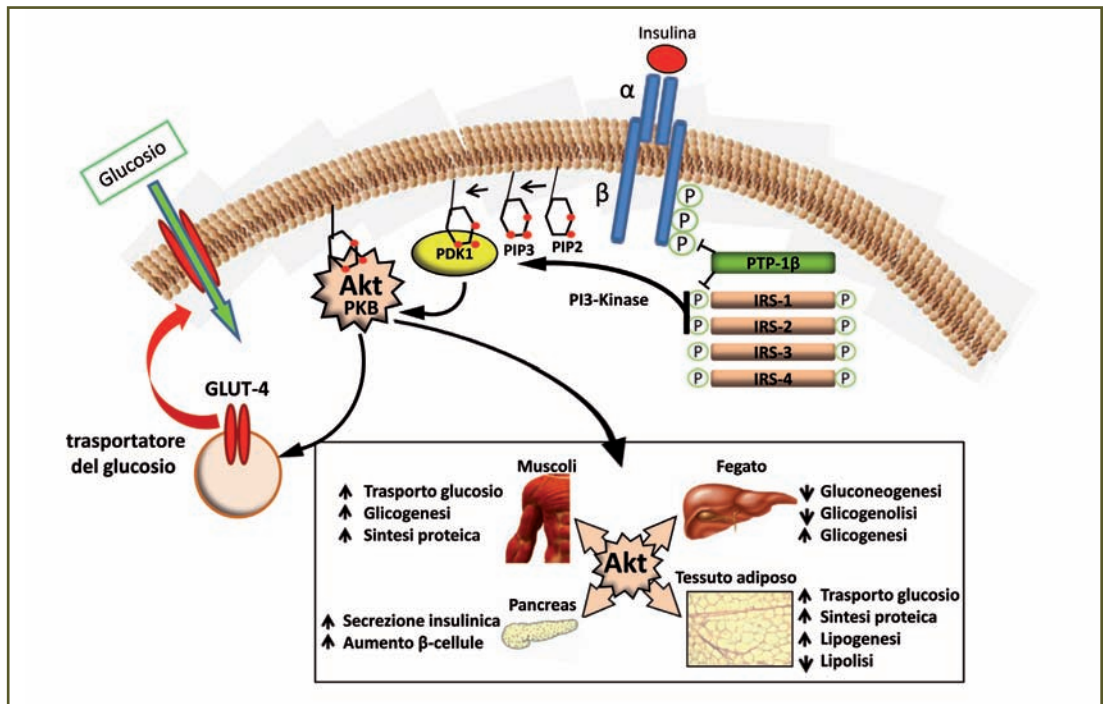


Figura 2 - Quando la molecola dell'insulina si lega al recettore insulinico, si avvia un processo di autofosforilazione del recettore, per cui la parte intracellulare del recettore insulinico (la subunità-β) viene fosforilata a livello dei residui tirosinici ad opera di protein-chinasi presenti nello stesso recettore insulinico. Questo fenomeno innesca a sua volta un processo di fosforilazioni a cascata. La fosforilazione del complesso IRS-1 e 2 determina a sua volta l'ancoraggio e l'attivazione della fosfatidil-inositolo 3-kinasi (PI3K) che a sua volta fosforila il fosfatidil-inositolo 3,4 bifosfato ([PI(3,4)P₂]) convertendolo in fosfatidil-inositolo 3,4,5 trifosfato [PI(3,4,5)P₃]. Questi nucleotidi agiscono come sedi di ancoraggio per alcune protein-chinasi, ancorandole alla membrana cellulare. Il [PI(3,4,5)P₃] ancorato alla membrana plasmatica lega la chinasi PDK-1 (phosphoinositol-dependent kinase-1) che a sua volta determina la fosforilazione della protein-chinasi B, denominata anche AKT, e la sua conseguente attivazione. La AKT attivata è responsabile di numerosi effetti metabolici dell'insulina a livello del tessuto adiposo, tessuto muscolare, fegato e pancreas.

tuate a valle della cascata metabolica. La più importante di queste è senza dubbio la chinasi AKT. Questa chinasi, nota anche come "protein chinasi B", ha un ruolo fondamentale sugli effetti metabolici dell'insulina, quali la traslocazione del trasportatore di glucosio GLUT4 dal citoplasma alla membrana cellulare, la sintesi di glicogeno, la sintesi proteica e l'effetto anti-lipolitico esercitato dall'insulina sul tessuto adiposo (39, 40) (Figura 2). La traslocazione del GLUT4 sulla membrana cellulare nei tessuti insulino-sensibili, ed in particolare

nel muscolo striato e nel tessuto adiposo, determina un netto incremento della captazione di glucosio da parte di questi tessuti (41).

"Spegnimento" fisiologico del recettore insulinico

Il recettore insulinico, dopo essere stato attivato dall'insulina ed aver avviato i processi di fosforilazione a cascata, deve essere rapidamente disattivato. Occorre sottolineare che l'attivazione operata dal segnale insulinico avviene fondamentalmente at-

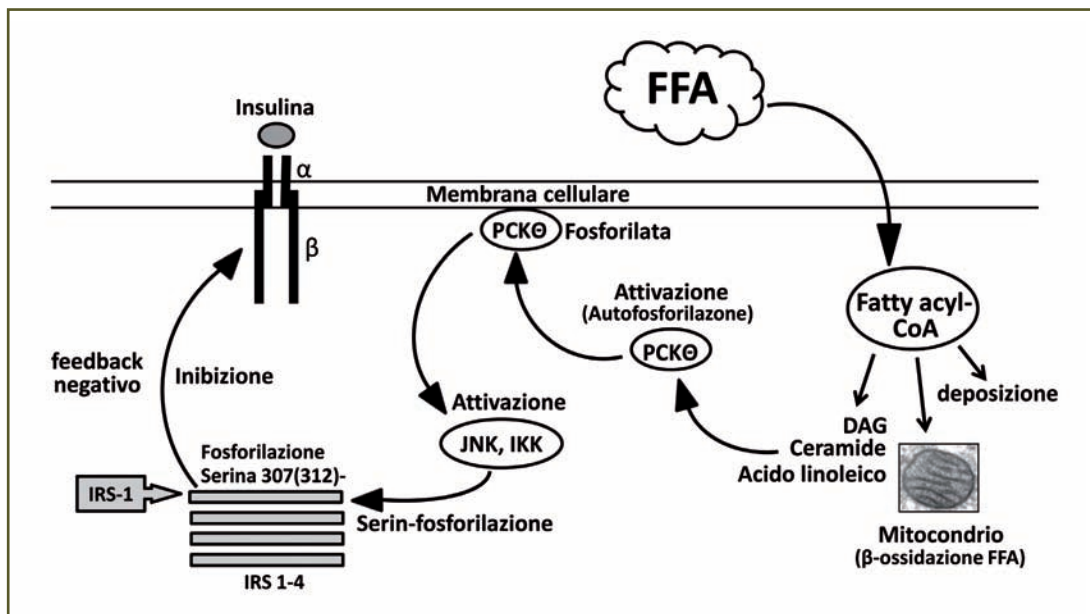


Figura 3 - Gli FFA, nella loro forma attivata (fatty acyl-CoA) sono metabolizzati attraverso due vie, l'ossidazione o la deposizione nel tessuto adiposo. Quando il flusso degli FFA eccede le capacità metaboliche di queste due vie, come generalmente accade nell'obesità, gli FFA ed i loro metaboliti intermedi [acido linoleico, diacilglicerolo (DAG), acido fosfatidico (PA), acido lisofosfatidico (LPA), ceramide] si accumulano nella cellula ed attivano (fosforilano) la fosfochinasi-C-Theta (PKC-Θ). La PKC-Θ fosforilata a sua volta attiva a cascata due serin-chinasi la JNK (c-JUN NH2-terminal kinase) e la IKK (inhibitor kappaB kinase). Le due chinasi JNK e IKK si legano al substrato IRS-1 e ne promuovono la fosforilazione della serina (serina 307 nell'uomo, serina 312 nei roditori). La serin-fosforilazione rappresenta un segnale di stop, per cui il complesso IRS-1 serin-fosforilato si blocca e si distacca dal recettore insulinico interrompendo l'interazione fra IRS-1 e recettore insulinico, per cui si ha l'interruzione del segnale insulinico e l'insorgenza della insulino-resistenza.

traverso un meccanismo di fosforilazione delle TIROSINE (tirosin-fosforilazione) dei substrati a valle, mentre la disattivazione del segnale avviene mediante un meccanismo di fosforilazione delle SERINE (serin-fosforilazione) dei substrati.

È la stessa insulina che, dopo aver attivato il recettore insulinico, si fa carico di spegnere il segnale del recettore disattivando il complesso IRS-1 mediante il meccanismo della serin-fosforilazione (38). Infatti, dopo aver attivato il recettore insulinico e la cascata degli eventi tirosin-fosforilativi, l'insulina determina la traslocazione sulla membrana cellulare e la conseguente attivazione di una serin-chinasi, la isoforma Theta della *Protein-Kinase C* (PKC-Θ),

che è nota essere negativamente associata alla sensibilità insulinica cellulare (42, 43). La PKC-Θ, attivata (fosforilata) con un meccanismo di autofosforilazione, si lega al complesso l'IRS-1 che viene a sua volta fosforilato a livello della serina (serina₃₀₇ nei roditori e serina₃₁₂ nell'uomo) (44). Il complesso IRS serin-fosforilato si distacca dal recettore insulinico e viene degradato dal sistema del proteasoma (38). In tal modo, il recettore insulinico viene "spento" e successivamente degradato.

Sono stati descritti anche altri meccanismi di *feedback* negativo sul segnale insulinico. Come si è detto, quando parte il segnale insulinico, il complesso IRS-1 viene tirosin-fosforilato da parte del recettore in-

sulinico; a sua volta l'IRS-1 attiva la cascata metabolica della *PI3-kinase*; quest'ultima però, provvede anche alla fosforilazione della serina₃₀₇ di IRS-1, bloccando in tal modo il processo di tirosin-fosforilazione di IRS1 operato dal recettore insulinico e quindi la propagazione del segnale insulinico (45). Malgrado la complessità del segnale insulinico, vi è accordo sul fatto che la fosforilazione dei residui di serina/treonina di IRS-1 blocca l'ulteriore tirosin-fosforilazione dello stesso IRS-1 da parte del recettore insulinico, bloccando in tal modo la propagazione del segnale a cascata attivato all'origine dal *binding* dell'insulina al recettore insulinico e "spegnendo" in tal modo l'attività del recettore stesso (38).

L'interruzione patologica del segnale del recettore insulinico

Con l'insorgere dell'obesità, i meccanismi che regolano l'attività del recettore insulinico vengono seriamente alterati da fattori che avviano le reazioni di "spegnimento" dell'attività del recettore. Tra i vari fattori che intervengono in questa opera di "spegnimento", l'eccesso di FFA circolanti e l'ipersecrezione di TNF- α appaiono avere un ruolo dominante (*Figura 3*).

FFA ed inattivazione del recettore insulinico

È noto da tempo che l'eccesso di FFA favorisce l'insorgenza di insulino-resistenza (46). Gli FFA, secondo numerosi studi, determinerebbero insulino-resistenza con un meccanismo di inibizione del segnale insulinico, circostanza che verrebbe a determinarsi per attivazione della cascata fosforilativa indotta da alcune serin-kinasi (47).

Come si è detto, l'obesità addomino-

viscerale determina un iperafflusso di FFA in circolo, con un conseguente incremento della captazione di FFA da parte del tessuto muscolare, del fegato e del tessuto adiposo. FFA attivati (es. fatty-acyl-CoA) vengono normalmente metabolizzati attraverso due vie: ossidazione o deposizione (*Figura 3*). Quando però l'iperafflusso di FFA eccede le capacità metaboliche di queste due vie, gli FFA e i loro metaboliti [acido linoleico, diacil glicerolo (DAG), acido fosfatidico (PA), acido lisofosfatidico (LPA), ceramide] si accumulano nei tessuti ove determinano l'attivazione di alcune serin-kinasi che a loro volta, come si è già detto, agiscono con una azione di blocco sul segnale insulinico. Studi recenti hanno chiarito il ruolo degli FFA sul processo di inattivazione e degradazione del recettore insulinico (48).

Gli FFA (es. acido linoleico) o alcuni suoi metaboliti intermedi (es. DAG, PA, LPA, ceramide) attivano la serin-chinasi PKC- Θ , che viene fosforilata a livello del residuo *treonina*₅₃₈. Questa serin-chinasi PKC- Θ attivata (fosforilata) innesca una reazione a cascata attivando a sua volta altre due serin-chinasi, la JNK (*c-JUN NH2-terminal kinase*) e l'inibitore *kB-kinase* (IKK). Queste due serin-chinasi si legano a loro volta al complesso IRS-1 determinando la sua fosforilazione a livello della *serina* [serina₃₁₂ nell'uomo (38), serina₃₀₇ nel roditore (49)] (*Figura 3*). La fosforilazione della serina del complesso IRS-1 determina il suo blocco funzionale e la conseguente insorgenza di resistenza insulinica attraverso il blocco della interazione fra recettore insulinico e complesso IRS-1 (50) e la successiva degradazione del complesso IRS-1 (38).

Il recettore insulinico reso inattivo viene internalizzato nella cellula e catabolizzato nel comparto lisosomiale. Questo percorso metabolico ha luogo in molti tessuti, particolarmente nei miociti, negli epatociti e negli adipociti (48).

TNF- α e segnale insulinico

Il TNF- α , una citochina infiammatoria secreta soprattutto dai macrofagi del tessuto adiposo (*Figura 1*), blocca il segnale insulinico ed induce insulino-resistenza nel tessuto adiposo dell'uomo interagendo con il complesso IRS (51, 52). Negli adipociti, il TNF- α inibisce la tirosin-fosforilazione indotta dall'insulina sia del recettore insulinico sia del complesso IRS-1, ed inoltre riduce sensibilmente l'attività insulino-dipendente del trasportatore del glucosio GLUT-4. Sul complesso IRS-1, il TNF- α agisce con un duplice meccanismo:

- a) fosforilazione della serina₃₀₇ nell'uomo e serina₃₁₂ nei roditori ad opera della serin-chinasi IKK e della *p38 MAP kinase* (p38MAPK);
- b) defosforilazione della tirosina ad opera della *protein-tyrosine phosphatase 1B* (PTP1B).

Per contro, il blocco della attività serin-fosforilasica del IKK operata dai salicilati ripristina la sensibilità insulinica anche in presenza di TNF- α (53). I meccanismi metabolici responsabili della riduzione quantitativa e funzionale del complesso IRS sono:

- a) fosforilazione dei residui di serina di IRS-1, che determina la conversione del complesso IRS-1 in una forma metabolica che inibisce l'attività tirosin-kinasica del recettore insulinico;
- b) defosforilazione delle tirosine operata da specifiche fosfatasi;
- c) degradazione del complesso IRS da parte del proteasoma (54, 55).

Il tessuto adiposo del soggetto obeso esprime una quantità di mRNA-TNF- α 2,5 volte maggiore di quella del tessuto adiposo del soggetto magro. Tuttavia, la quantità di TNF- α presente in circolo è risultata essere molto bassa o addirittura non misurabile, per cui si è concluso che più che agire in maniera sistemica, il TNF- α agisce

localmente, a livello del tessuto adiposo, con un meccanismo autocrino o paracrino o con entrambi questi meccanismi, con pesanti effetti sull'insulino-resistenza e sulla secrezione di IL-6 (56). Per concludere, quindi, l'effetto inibitorio del TNF- α sul segnale insulinico è mediato da un duplice meccanismo, di fosforilazione della serina e di defosforilazione della tirosina del complesso IRS-1, processi che determinano la inattivazione di questo fondamentale substrato e la sua degradazione nel compartimento lisosomiale.

Conclusioni

In sintesi, l'attività del recettore insulinico si svolge come segue: l'insulina determina, come primo evento, l'autofosforilazione dei residui di tirosina della subunità- β transmembrana del recettore insulinico, a cui fa seguito l'attrazione ed ancoraggio alla stessa subunità- β del complesso IRS-1 che così viene a sua volta attivato mediante fosforilazione dei suoi residui di tirosina. Nel "signalling" insulinico, il complesso IRS svolge pertanto un ruolo fondamentale, connesso ai processi di fosforilazione. Il complesso IRS-1 può essere tuttavia fosforilato sia a livello dei residui di tirosina sia di serina, con effetti opposti sul segnale insulinico. La fosforilazione dei residui di "tirosina" di IRS-1 e il successivo ancoraggio di IRS-1 alla subunità β transmembrana del recettore insulinico attiva la cascata fosforilativa del segnale insulinico nel muscolo, nel fegato e nel tessuto adiposo. Al contrario, la fosforilazione dei residui di "serina" di IRS-1 determina l'inattivazione del complesso IRS-1 e la conseguente interruzione del segnale insulinico, il distacco di IRS-1 dal recettore insulinico e la sua degradazione nel sistema lisosomiale. L'eccesso di FFA circolanti ha un ruolo esattamente opposto a quello

dell'insulina, in quanto blocca l'attività del recettore insulinico con un meccanismo di fosforilazione dei residui di *serina* del complesso IRS-1ad opera di una serin-chinasi, la PKC- Θ , che viene attivata appunto dagli FFA. La serin-fosforilazione di IRS-1 determina il suo distacco dal recettore insulinico ed il conseguente blocco sia dell'attività del recettore insulinico sia del complesso IRS-1, con la successiva degradazione di questi due substrati nel proteasoma. La serin-chinasi PKC- Θ risulta essere cronicamente attivata nei soggetti obesi per cui appare essere con ogni probabilità la causa principale dell'insulino-resistenza nell'obeso (48). Per quanto riguarda l'attivazione delle serin-chinasi, si è visto che il salicilato, bloccando l'attivazione della serin-chinasi IKK- β indotta dall'eccesso di FFA, previene la serin-fosforilazione del complesso IRS-1 e la conseguente inattivazione sia di IRS-1 sia del recettore insulinico (52). Questa

capacità del salicilato di prevenire il danno del segnale insulinico da parte degli FFA identifica nel salicilato il prototipo potenziale di una nuova classe di agenti terapeutici per l'insulino-resistenza ed il diabete tipo 2. Infine, per quanto riguarda la citochina infiammatoria TNF- α , espressa soprattutto dai macrofagi residenti nel tessuto adiposo "infiammato" dei soggetti obesi, questa citochina inibisce il segnale insulinico bloccando l'attività del complesso IRS-1 con un duplice meccanismo:

- a) di serin-fosforilazione operata dalla serin-chinasi IKK;
- b) di tirosin-defosforilazione indotta dalla fosfatasi "*protein-tyrosine phosphatase 1B*" (PTP1B).

Ringraziamento

Questo lavoro è stato realizzato con il supporto della: "Fondazione Dieta Mediterranea, ONLUS - Ostuni, Italia.

GLOSSARIO

AKT: Active human protein kinase. È una protein chinasi serina/treonina-specifica, denominata anche protein kinase B (PKB).

DAG: Diacyl glycerol. Digliceride, derivato dal trigliceride per idrolisi (distacco) di un acido grasso.

FFA: Free Fatty Acid. Acidi grassi liberi circolanti, derivanti dalla idrolisi dei trigliceridi.

GLUT-4: Glucose Transporter type 4. Trasportatore del glucosio (carrier del glucosio) sensibile all'insulina, situato in fase attiva sulla membrane cellulare.

IKK: Inhibitor κ B-kinase. È una serin-chinasi, inibitore della chinasi κ B.

IL-1, IL-6, ecc. Interleukin1, Interleukin 6, etc. Citochine infiammatorie.

IR: Insulin Receptor. Recettore insulinico.

IRS1-4: Insulin Receptor Substrate 1-4. Chinasi che promuovono la tirosin-fosforilazione di substrati a valle.

JNK: c-JUN NH2-terminal kinase. È una serin-chinasi.

LPA: Lysophosphatidic Acid. Acido lisofosfatidico, metabolita di FFA.

MCP-1: Monocyte Chemoattractant Protein. Citochina infiammatoria, che recluta monociti

NAFLD: Non Alcoholic Fatty Liver Disease. Steatosi epatica di origine non alcolica.

NEFA: Non Esterified Fatty Acids. Acidi grassi non esterificati, cioè acidi grassi liberi

NGF: Nerve Growth Factor. Fattore di crescita neuronale. È una proteina segnale coinvolta nello sviluppo del sistema nervoso.

PA: Phosphatidic Acid. Acido fosfatidico, metabolita di FFA.

PAI-1: Plasminogen Activator Inhibitor. Fattore della risposta della fase acuta.

PKC- Θ : Protein-Kinase C Theta. È una serin-chinasi, cioè una chinasi che determina la fosforilazione dei residui di serina nei substrati, che vengono così inattivati.

p38MAPK: p38 MAP kinase. È una serin chinasi.

PTP1B: Protein-tyrosine phosphatase 1B. È una fosfatasi, che promuove la defosforilazione della tirosina, bloccando l'attività del complesso IRS-1.

SAA: Serum Amyloid A. Fattore della risposta della fase acuta.

SCAT: Subcutaneous Adipose Tissue. Tessuto adiposo sottocutaneo.

TGF- β : Transforming Growth Factor- β . Fattore di crescita beta. Citochina infiammatoria.

TNF- α : Tumor Necrosis Factor alpha. È una citochina infiammatoria.

VAT: Visceral Adipose Tissue. Tessuto adiposo addominale-periviscerale.

VCAM-1: Vascular Cell Adhesion Molecule -1. Fattore molecolare di adesione cellulare, secreto dalle cellule endoteliali.

RIASSUNTO

La resistenza insulinica ed il diabete mellito tipo 2 sono le conseguenze più frequenti dell'eccessivo accumulo di adipe, particolarmente a livello addominale e periviscerale. Quando il bilancio calorico è positivo, gli adipociti vanno incontro ad una iniziale ipertrofia che però stimola anche segnali cellulari per il reclutamento, la proliferazione e la differenziazione di nuovi adipociti. Se la neo-adipogenesi da pre-adipociti è in qualche modo bloccata, come nel caso della Sindrome Metabolica, la mancata deposizione dell'eccesso calorico sotto forma di nuovo adipe in nuove cellule adipose non può aver luogo per cui si viene a determinare una eccessiva ipertrofia delle cellule adipose pre-esistenti, con la formazione di adipociti ipertrofici e disfunzionali che danno origine a risposte endocrine ed immunitarie del tutto anomale e patologiche. Una sede preferenziale dell'accumulo di adipe è la regione addominale e periviscerale, per alcuni peculiari aspetti del grasso di questa regione, caratterizzato soprattutto da una notevole attività glucocorticoidea che promuove l'accumulo di grasso in questa sede. Inoltre, gli adipociti del tessuto adiposo viscerale sono metabolicamente molto più attivi e molto più sensibili alla lipolisi rispetto agli adipociti sottocutanei, poiché sono dotati di un assai maggior numero di recettori- β_3 -adrenergici (che favoriscono la lipolisi) e di un considerevole minor numero di recettori- α_2 adrenergici (anti-lipolitici). Di conseguenza, a seguito di una accentuata lipolisi, quantità molto elevate di FFA vengono rilasciate nel sistema portale. Infine, anche il numero dei recettori insulinici è molto più basso nel grasso addominale e periviscerale rispetto al grasso sottocutaneo, cosa che rende il grasso addomino-periviscerale molto meno sensibile agli stimoli inibitori anti-lipolitici dell'insulina e quindi più insulino-resistente e più sensibile agli stimoli lipolitici rispetto al grasso sottocutaneo.

Gli adipociti ipertrofici cominciano a secernere piccole quantità di TNF α che stimola i preadipociti e le cellule endoteliali a secernere MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1) che a sua volta richiama macrofagi nel tessuto adiposo per cui si viene a determinare una condizione infiltrativa-flogistica sub-latente (low grade inflammation) che è correlata con l'insorgenza della resistenza insulinica.

L'eccesso di FFA in circolo e di TNF α nel tessuto adiposo determina insulino-resistenza. 1) L'eccesso di FFA in circolo induce insulino-resistenza bloccando il segnale insulinico attraverso l'attivazione di serin-kinasi, es. la protein-kinasi C- Θ e le serin-kinasi JNK ed IKK. Queste serin-kinasi attivano un meccanismo di serin-fosforilazione dei residui di serina di IRS (insulin receptor substrate); tale fosforilazione rappresenta un segnale di stop perché blocca il segnale del recettore insulinico.

2) Anche il TNF α , secreto dagli adipociti ipertrofici e dai macrofagi del tessuto adiposo, blocca il segnale del recettore insulinico, con un duplice meccanismo: a) di serin-fosforilazione e b) di tirosindefosforilazione di IRS-1, per cui questo importante substrato viene inattivato, staccato dal recettore insulinico e catabolizzato nel proteasoma.

Questi meccanismi spiegano il processo di transizione dalla condizione di eccessiva adiposità alla insulino-resistenza, momento cruciale per l'insorgenza del diabete mellito tipo 2.

Parole chiave: *Obesità, recettore insulinico, FFA, resistenza insulinica, sindrome metabolica, diabete mellito.*

Bibliografia

1. 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.
2. Avogaro P, Crepaldi G, Enzi G, Tiengo A. Association of hyperlipidemia, diabetes mellitus and mild obesity. *Acta Diabetol Lat* 1967; 4: 572-590.
3. Reaven GM. The insulin resistance syndrome: definition and dietary approaches to treatment. *Annu. Rev. Nutr.* 2005; 25: 391-406.
4. Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC, Steig AJ, Stob NR, Van Pelt RE, Wang H, Eckel RH. The metabolic syndrome. *Endocrine Reviews* 2008; 29: 777-822.
5. Ferrannini E, Barrett EJ, Bevilacqua S, DeFronzo RA. Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man. *J Clin Invest* 1983; 72: 1737-1747.
6. Kelley DE, Mokan M, Simoneau JA, Mandarino LJ. Interaction between glucose and free fatty acid metabolism in human skeletal muscle. *J Clin Invest* 1993; 92: 91-98.

7. Bays H, Ballantyne C. Adiposopathy: why do adiposopathy and obesity cause metabolic disease?. *Future Lipidol* 2006; 1: 389-420.
8. 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.
9. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH. American Heart Association; Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation* 2006; 114: 898-918.
10. Madonna R, De Caterina R. In vitro neovascularogenic potential of resident adipose tissue precursors. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 295: C1271-C1280.
11. Bays HE. Adiposopathy. Is "sick fat" a cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol* 2011; 57: 2461-2473.
12. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, Alfonso ZC, Fraser JK, Benhaim P, Hedrick MH. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 4279-4295.
13. Spalding KL, Arner E, Westermarck PO, Bernard S, Buchholz BA, Bergmann O, Blomqvist L, Hoffstedt J, Näslund E, Britton, Concha H, Hassan M, Rydén M, Frisén J, Arner P. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature* 2008; 453: 783-787.
14. Bays HE, González-Campoy JM, Bray GA, Kitabchi AE, Bergman DA, Schorr AB, Rodbard HW, Henry RR. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008; 6: 343-68.
15. Pasarica M, Xie H, Hymel D, Bray G, Greenway F, Ravussin E, Smith SR. Lower total adipocyte number but no evidence for small adipocyte depletion in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32: 900-902.
16. Ibrahim M M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev* 2010; 11: 11-18.
17. Pedersen SB. Studies on receptors and actions of steroid hormones in adipose tissue. *Dan Med Bull* 2005; 52: 258.
18. Tomlinson JW, Walker EA, Bujalska IJ, Draper N, Lavery GG, Cooper MS, Hewison M, Stewart PM. 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. *Endocr Rev* 2004; 25: 831-866.
19. Rebuffe-Scrive M, Andersson B, Olbe L, Bjorntorp P. Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots of non-obese men and women. *Metabolism* 1989; 38: 453-461.
20. Krotkiewski M, Bjorntorp P, Sjostrom L, Smith U. Impact of obesity on metabolism in men and women: importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest* 1983; 72: 1150-1162.
21. Lonnqvist F, Thome A, Nilsell K, Hoffstedt J, Arner P. A pathogenic role of visceral fat P3-adrenoceptors in obesity. *J Clin Invest* 1995; 95: 1109-1116.
22. Kopelman PG, Albon L. Obesity, non-insulin-dependent diabetes mellitus and the metabolic syndrome. *Brit Med J* 1997; 53: 322-340.
23. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr* 2004; 92: 347-355.
24. Das UN. Is obesity an inflammatory condition? *Nutrition* 2001; 17: 953-966.
25. Yudkin JS. Adipose tissue, insulin action and vascular disease: inflammatory signals. *Int J Obesity*. 2003; 27: Suppl. 3, S25-S28.
26. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006; 444: 860-867.
27. Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest* 2008; 118: 2992-3002.
28. Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112: 1785-1788.
29. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Görgün CZ, Uysal K.T, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS. A central role for JNK in obesity

- and insulin resistance. *Nature* 2002; 420: 333-336.
30. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante Jr. AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112: 1796-1808.
 31. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ, Sole J, Nichols A, Ross JS, Tartaglia LA, Chen H. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* 2003; 112: 1821-1830.
 32. Clement K, Viguerie N, Poitou C, Carette C, Pelloux V, Curat CA, Sicard A, Rome S, Benis A, Zucker J D, Vidal H, Laville M, Barsh GS, Basdevant A, Stich V, Cancellor R, Langin D. Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. *FASEB J* 2004; 18: 1657-1669.
 33. Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murakami C, García-Cardena G, Papapetropoulos A, Sessa WC, Madge LA, Schechner JS, Schwabb MB, Polverini PJ, Flores-Riveros JR. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998; 281: 1683-1686.
 34. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y, et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat. Med.* 2002; 8: 731-737
 35. Madonna R, De Caterina R. Atherogenesis and diabetes: focus on insulin resistance and hyperinsulinemia. *Rev Esp Cardiol* 2012; 65: 309-313.
 36. Suganami T, Ogawa Y. Adipose tissue macrophages: their role in adipose tissue remodeling. *J Leukoc Biol* 2010; 88: 33-39.
 37. Ward CW, Lawrence MC. Ligand-induced activation of the insulin receptor: a multi-step process involving structural changes in both the ligand and the receptor. *Bioessays* 2009; 31: 422-34.
 38. Greene MW, Sakaue H, Wang L, Alessi DR, Roth RA. Modulation of insulin-stimulated degradation of human insulin receptor substrate-1 by Serine 312 phosphorylation. *J Biol Chem* 2003; 278: 8199-8211.
 39. Kitamura T, Kitamura Y, Kuroda S, Hino Y, Ando M, Kotani K, Konishi H, Matsuzaki H, Kikkawa U, Ogawa W, Kasuga M. Insulin-induced phosphorylation and activation of cyclic nucleotide phosphodiesterase 3B by the serine-threonine kinase Akt. *Mol. Cell Biol.* 1999; 19: 6286-6296.
 40. Shepherd PR. Mechanisms regulating phosphoinositide 3-kinase signalling in insulin-sensitive tissues. *Acta Physiol Scand* 2005; 183: 3-12.
 41. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; 414: 799-806.
 42. Standaert ML, Bandyopadhyay G, Galloway L, Soto J, Ono Y, Kikkawa U, Farese RV, Leitges M. Effects of knockout of the protein kinase C gene on glucose transport and glucose homeostasis. *Endocrinology* 1999; 140: 4470-4477.
 43. Leitges M, Plomann M, Standaert ML, Bandyopadhyay G, Sajan MP, Kanoh Y, Farese RV. Knockout of PKC enhances insulin signaling through PI3K. *Mol Endocrinol* 2002; 16: 847-858.
 44. Sun XJ, Goldberg JL, Qiao LY, Mitchell JJ. Insulin induced insulin receptor substrate-1 degradation is mediated by the proteasome degradation pathway. *Diabetes* 1999; 48: 1359-1364.
 45. Rui L, Aguirre V, Kim J.K, Shulman G.I, Lee A, Corbould A, Dunaif A, White MF. Insulin/IGF-1 and TNF- α stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways. *J Clin Invest* 2001; 107: 181-189.
 46. Boden G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes* 1997; 46: 3-10
 47. Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, Goodyear LJ, Kraegen EW, White MF, Shulman GI. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C θ and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes* 1999; 48: 1270-1274.
 48. Gao Z, Zhang X, Zuberi A, Hwang D, Quon MJ, Lefevre M, Ye J. Inhibition of insulin sen-

- sitivity by free fatty acids requires activation of multiple serine kinases in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol* 2004; 18: 2024-2034.
49. Gual P, Le Marchand-Brustel Y, and Tanti JF. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie* 2005; 87: 99-109.
 50. Aguirre V, Werner ED, Giraud J, Lee YH, Shoelson SE, White MF. Phosphorylation of ser307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 1531-1537.
 51. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995; 95: 2409-2415.
 52. Skolnik EY, Marcusohn J. Inhibition of insulin receptor signaling by TNF: potential role in obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1996; 7: 161-173.
 53. Kim JK, Kim YJ, Fillmore JJ, Chen Y, Moore I, Lee J, Yuan M, Li ZW, Karin M, Pascale Perret P, Steven E, Shoelson PS, Gerald I, Shulman GI. Prevention of fat-induced insulin resistance by salicylate. *J Clin Invest* 2001; 108: 437-446.
 54. White M F. Insulin signaling in health and disease. *Science* 2003; 302: 1710-1711.
 55. Pirola L, Johnston A M, Van Obberghen E. Modulation of insulin action. *Diabetologia* 2004; 47: 170-184.
 56. Arner P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol Metab* 2003; 14: 137-145.