

## **LIPOPROTEINE PLASMATICHE A BASSA DENSITÀ NELLA PATOGENESI DELL'INSULINO-RESISTENZA**

Beatrice Scazzocchio, Ilaria Del Gaudio, Roberta Masella

*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

### **Stress ossidativo nella patogenesi dell'aterosclerosi**

Lo stress ossidativo è una condizione patologica in cui si instaura uno squilibrio irreversibile tra specie pro-ossidanti e specie antiossidanti a favore delle prime. Lo stress ossidativo svolge un ruolo fondamentale nella patogenesi di diverse malattie degenerative come l'aterosclerosi e le malattie cardio-cerebrovascolari, il diabete di tipo 2, le malattie neurodegenerative e il cancro.

Le reazioni ossidative sono una parte essenziale dei processi metabolici perché l'ossigeno è l'accettore finale nel sistema mitocondriale di trasporto di elettroni che produce adenosina trifosfato (ATP). Qualora il flusso di elettroni e la produzione di energia non sono più accoppiati, si ha la produzione di una vasta gamma di radicali liberi derivati dall'ossigeno (ossidrile OH, perossile O<sub>2</sub>, radicali RO) e di derivati non radicali (anione superossido O<sub>2</sub><sup>-</sup>, perossido d'idrogeno H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), collettivamente indicati come ROS (*Reactive Oxygen Species*). I ROS vengono continuamente prodotti all'interno della cellula, in particolare nei mitocondri e nei perossisomi (1) e possono essere generati come conseguenza del metabolismo di sostanze estranee, tossine, farmaci, alimenti o per esposizione a fattori ambientali quali inquinanti, metalli pesanti o radiazioni ultraviolette (2). A bassi livelli fisiologici, i ROS possono agire come 'messaggeri redox' nelle vie di segnale intracellulare, mentre, all'opposto, livelli elevati possono innescare processi infiammatori, apoptosi o necrosi (1). Numerose evidenze indicano che lo stress ossidativo determinato dall'aumento dei ROS, e in particolare di O<sub>2</sub><sup>-</sup>, innesca e amplifica il processo aterosclerotico poiché determina alterazioni dell'espressione genica, promuove l'infiammazione e la disfunzione endoteliale. È ormai largamente riconosciuto che lo stato funzionale dell'endotelio, l'infiammazione e lo stress ossidativo giocano un ruolo chiave in tutte le fasi dell'aterosclerosi (3, 4). La malattia aterosclerotica è caratterizzata dall'attivazione delle cellule endoteliali, dall'infiltrazione di cellule bianche del sangue (soprattutto monociti e linfociti) richiamate da fattori chemiotattici secreti dalle cellule endoteliali, dalla migrazione di cellule muscolari lisce dalla media all'intima delle arterie (5, 6) e dall'accumulo di grasso, in particolare colesterolo, nell'intima dei vasi. Questo porta alla formazione di aree più o meno estese di accumulo di colesterolo e formazione di lesioni vasali dette placche aterosclerotiche, dovute all'interazione di macrofagi, cellule T e lipoproteine a bassa densità ossidate (*oxidized Low-Density Lipoprotein, oxLDL*).

### **Attività biologica delle lipoproteine LDL**

Le LDL sono normalmente coinvolte nel trasporto di colesterolo e nutrienti attraverso le pareti dei vasi. L'ingresso nelle cellule è modulato da recettori specifici, il cui turnover è regolato dalla quantità di colesterolo presente all'interno della cellula, in modo da evitarne un eccessivo accumulo. Se la permanenza in circolo delle LDL si prolunga, o per una eccessiva

sintesi o per un deficit di attività del recettore, esse possono andare incontro a modificazioni chimiche quali ossidazione, acetilazione e coniugazione con aldeidi (Figura 1).

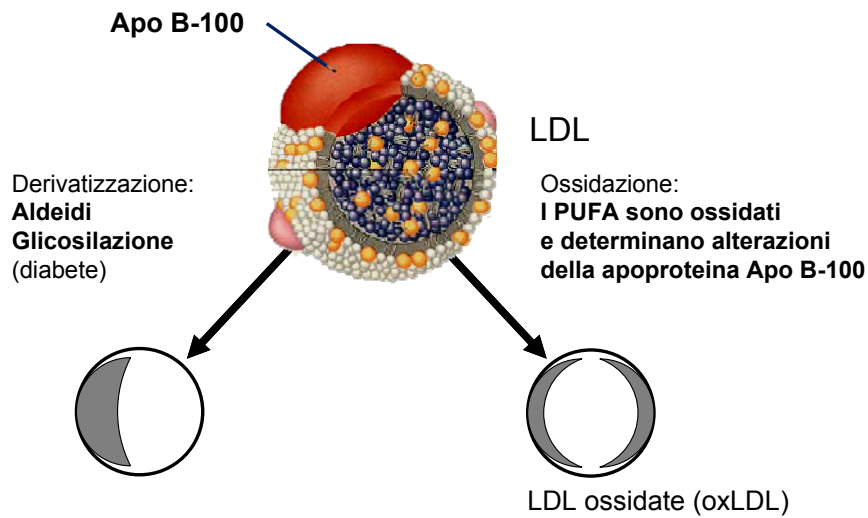


Figura 1. Modificazioni chimiche delle LDL

Le LDL modificate non vengono più riconosciute dal recettore specifico regolato a feedback negativo, ma vengono invece legate da recettori *scavenger* presenti sui macrofagi. Le oxLDL, internalizzate dal macrofago, causano la sua conversione in *foam cell* (cellule schiumose) a causa dell'accumulo intracellulare di lipidi (Figura 2).

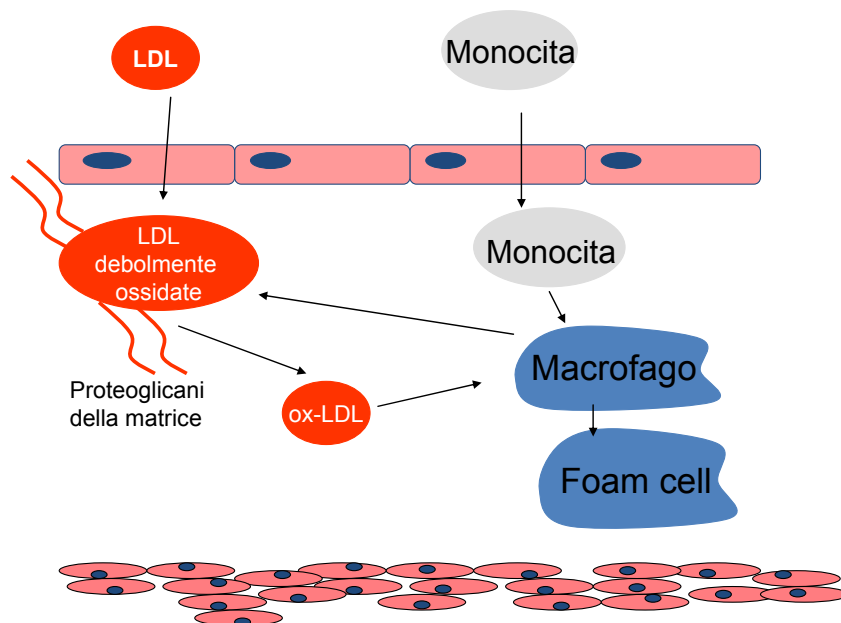
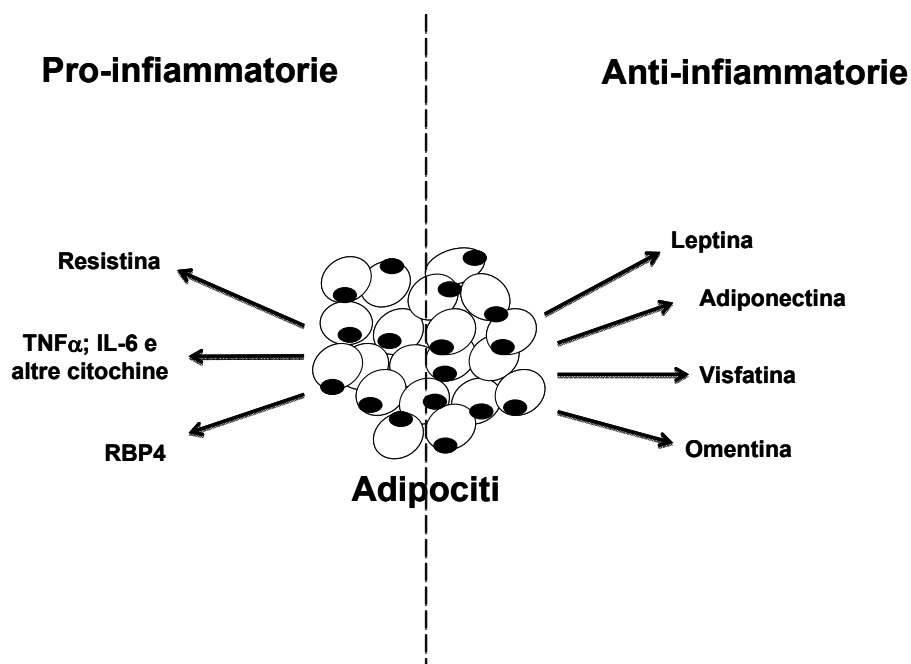


Figura 2. Processo di formazione della *foam cell*

Molte evidenze sperimentali hanno dimostrato che le oxLDL sono in grado di modulare svariate attività biologiche, probabilmente per la presenza di lipidi ossidati che possono fungere da messaggeri di segnale intracellulare. Inoltre, si sta concretizzando l'ipotesi che le oxLDL possano interagire con il tessuto adiposo e che quest'ultimo possa avere un ruolo non marginale nel metabolismo di queste lipoproteine modificate. In particolare, noi abbiamo dimostrato che le oxLDL alterano i processi cellulari coinvolti nel mantenimento dell'omeostasi del tessuto adiposo e nella regolazione della massa grassa. Esse, infatti, sono in grado di influenzare i processi cellulari di base come apoptosi, proliferazione e differenziamento (7). La principale funzione del tessuto adiposo per lungo tempo è stata considerata quella di immagazzinare grassi che possano poi essere rilasciati durante periodi di digiuno o di deprivazione prolungata di cibo. Negli ultimi 20 anni però è radicalmente mutata la considerazione del mondo scientifico nei confronti delle funzioni del tessuto adiposo che è oggi considerato un vero e proprio organo endocrino, alla luce della sua significativa attività secretoria. Il tessuto adiposo, in particolare quello a localizzazione viscerale, è formato da adipociti e da altri tipi cellulari che compongono nel loro insieme la parte stromo-vascolare formata da preadipociti, cellule immuni (macrofagi, monociti, linfociti), cellule endoteliali e fibroblasti. Gli adipociti producono sostanze, le cosiddette adipocitochine, che svolgono importanti attività regolatorie in modo autocrino, paracrino ed endocrino (Figura 3).



**Figura 3. Adipochine pro-infiammatorie e anti-infiammatorie**

Alterazioni della funzionalità adipocitaria, dovute per esempio ad accumulo di grasso intracellulare, possono quindi avere conseguenze a livello sistemico. A questo riguardo, l'accumulo di grasso viscerale è associato alla comparsa di malattie cardiovascolari, diabete tipo 2 e Insulino-Resistenza (IR). D'altra parte, è stato dimostrato che LDL ossidate sono presenti a livelli più elevati rispetto ai controlli sani, nel plasma non solo di pazienti con aterosclerosi, ma anche di pazienti obesi e con diabete di tipo 2 (8). Inoltre, molte evidenze sperimentali hanno

dimostrato che le oxLDL sono in grado di influenzare svariate attività cellulari come proliferazione, apoptosi e differenziamento, modulando, ad esempio, la produzione di citochine e quella di fattori di trascrizione come il *Peroxisome Proliferator Activated Receptor* (PPAR) e il *Nuclear Factor-kappa B* (NF- $\kappa$ B). Le oxLDL potrebbero, quindi, contribuire alla comparsa di obesità e delle sue complicanze, alterando i processi cellulari coinvolti nel mantenimento dell'omeostasi del tessuto adiposo e nella regolazione della massa grassa. Lo stress ossidativo e l'infiammazione giocano quindi un ruolo importante nella patogenesi dell'insulino-resistenza.

## Lipoproteine LDL e trasporto del glucosio

I livelli di glucosio ematico dipendono dall'insulina che regola l'entrata del glucosio nelle sue cellule *target*, precisamente in cellule muscolari e adipociti. L'internalizzazione del glucosio nelle cellule *target* dell'insulina è mediata dal trasportatore di glucosio il *GLU*ose *Transporter 4* (GLUT4) che fra tutti è quello maggiormente sensibile all'ormone. Il legame dell'insulina al suo recettore di membrana innesca una serie di segnali a catena che iniziano con l'attivazione del substrato del recettore dell'insulina, *Insulin Receptor Substrate 1* (IRS-1) e, attraverso la successiva attivazione a cascata di specifiche chinasi, culminano con la traslocazione del GLUT4 dalle vescicole intracitoplasmatiche in cui è conservato, alla membrana plasmatica (Figura 4).

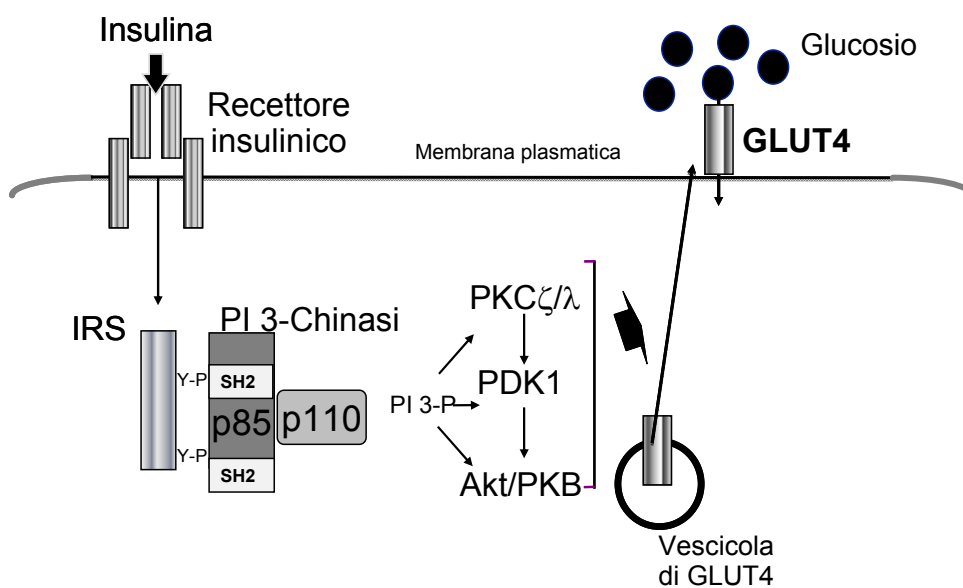


Figura 4. Catena di trasmissione del segnale insulinico

Si è dimostrato che nelle cellule muscolari di pazienti diabetici l'espressione di GLUT4 in membrana è fortemente ridotta (9). Partendo da tutti questi presupposti, la nostra ipotesi di lavoro è stata quella di studiare se le oxLDL potessero avere un ruolo nella patogenesi dell'IR alterando la capacità degli adipociti di rispondere all'insulina. In particolare è stato dimostrato

che le oxLDL sono in grado di indurre insulino-resistenza in adipociti murini 3T3-L1 e in adipociti primari umani isolati da biopsie di tessuto viscerale riducendo la capacità delle cellule di rispondere all'azione dell'insulina, attraverso l'attivazione di serin/treonin chinasi che sono coinvolte nell'infiammazione e che alterano la normale via di trasduzione del segnale insulinico (10, 11) (Figura 5).

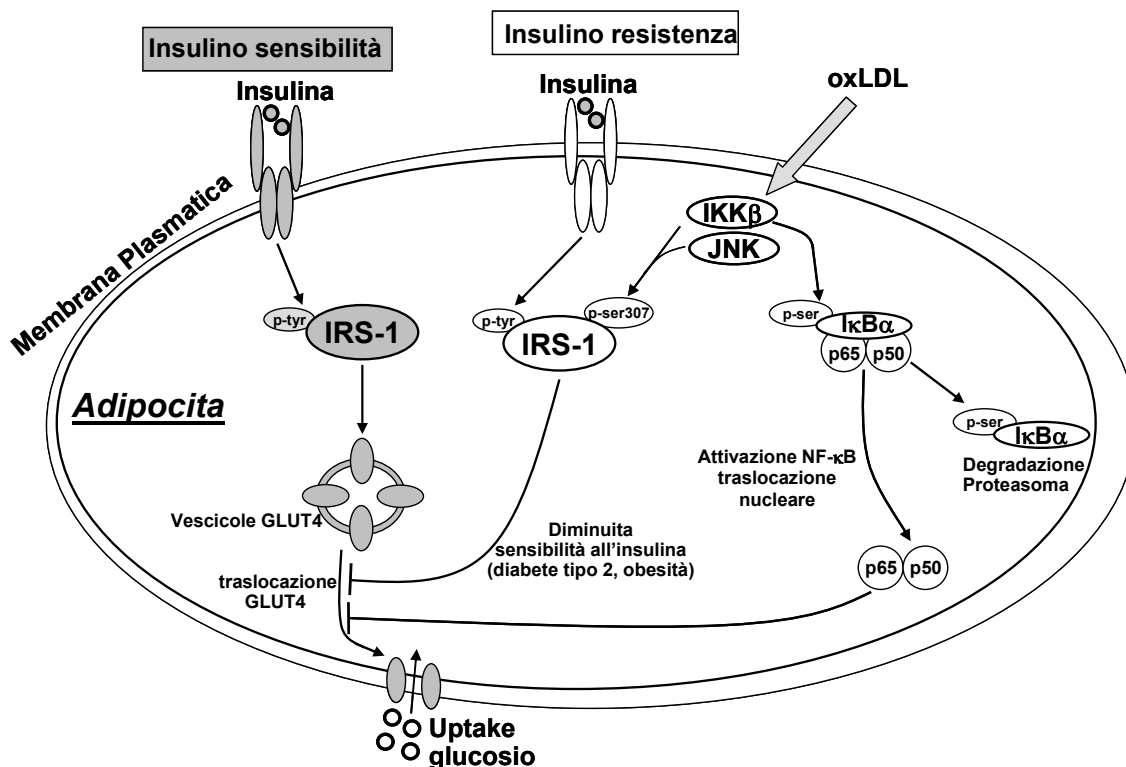


Figura 5. Rappresentazione schematica degli effetti delle oxLDL sulla sensibilità insulinica

## Conclusioni

Prevenire e contrastare la comparsa di insulino-resistenza è evidentemente uno dei principali obiettivi da raggiungere per preservare la salute della popolazione. Esistono vari tipi di farmaci ipoglicemizzanti più o meno efficaci, spesso controindicati in particolari tipologie di pazienti, a volte con effetti collaterali abbastanza preoccupanti. Si sente quindi la necessità di individuare nuovi approcci terapeutici che permettano di migliorare l'efficacia e la sicurezza. Pertanto, gli studi volti a definire più accuratamente i meccanismi alla base del processo disfunzionale dell'organo adiposo e gli interventi volti a migliorare l'azione insulinica sono stati, e rimangono, oggetto di ricerca al fine di prevenire e/o curare le malattie cardio-metaboliche correlate.

## Bibliografia

1. Del Río L A, Sandalio LM, Corpas FJ, Palma JM, Barroso JB. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant Physiol* 2006;141(2):330-5.
2. Ichihashi M, Ueda M, Budiyanto A, Bito T, Oka M, Fukunaga M, Tsuru K, Horikawa T. UV-induced skin damage. *Toxicology* 2003;189(1-2):21-39.
3. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92(3):657-71.
4. Davies M. Going from immutable to mutable atherosclerotic plaques. *Am J Cardiol* 2001;88(4A):2F-9F.
5. Ross R. Atherogenesis-An inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115-26.
6. Krams R, Cuhlmann S, Foin N, Evans P. Shear stress, inflammation and Atherosclerosis. *Artery Res* 2010; 4(2):41-6.
7. D'Archivio M, Scazzocchio B, Filesi C, Vari R, Maggiorrella MT, Sernicola L, Santangelo C, Giovannini C, Masella R. Oxidised LDL upregulate CD36 expression by the Nrf2 pathway in 3T3-L1 preadipocytes. *FEBS Lett* 2008;582(15):2291-8.
8. Couillard C, Ruel G, Archer WR, Pomerleau S, Bergeron J, Couture P, Lamarche B, Bergeron N. Circulating Levels of oxidative stress markers and endothelial adhesion molecules in men with abdominal obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2005;90(12):6454-9.
9. Zierath JR, He L, Gumà A, Odegaard Wahlström E, Klip A, Wallberg-Henriksson H. Insulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle from patients with NIDDM. *Diabetologia* 1996;39(10):1180-9.
10. Scazzocchio B, Vari R, D'Archivio M, Santangelo C, Filesi C, Giovannini C, Masella R. Oxidized LDL impair adipocyte response to insulin by activating serine/threonine kinases. *J Lipid Res* 2009;50(5):832-845.
11. Scazzocchio B, Vari R, Filesi C, D'Archivio M, Santangelo C, Giovannini C, Iacovelli A, Silecchia G, Li Volti G, Galvano F, Masella R. Cyanidin-3-O- $\beta$ -glucoside and protocatechuic acid exert insulin-like effects by upregulating PPAR $\gamma$  activity in human omental adipocytes. *Diabetes* 2011;60(9):2234-44.
12. Werner ED, Lee J, Hansen L, Yuan M, Shoelson SE. Insulin resistance due to phosphorylation of insulin receptor substrate-1 at serine 302. *J Biol Chem* 2004; 279(34):35298-305.