

## Aterosclerosi e diabete: due facce della stessa medaglia

Massimo Federici, Stefano Rizza, Renato Lauro

Centro per l'Aterosclerosi Policlinico Tor Vergata e Dipartimento di Medicina Interna, Università di Roma Tor Vergata

### ABSTRACT

**Atherosclerosis and diabetes: two faces of the same coin.** Type 2 diabetes mellitus and atherosclerosis, the two major health problems from western countries in the next decades, are often associated in patients. While we were used to thinking atherosclerosis as a complication of diabetes, we have now learned that the two diseases arise from common mechanisms. In this article we review this new scenario which is changing our diagnostic and therapeutic approach. The new approach to control the burden of diabetes and atherosclerosis is to search for simultaneous prevention and treatment of the two diseases.

### INTRODUZIONE

L'Aterosclerosi è stata sempre considerata come la complicanza macrovascolare tardiva comune sia al diabete di tipo 1 che al diabete di tipo 2<sup>1</sup>, sebbene diversi studi sperimentali effettuati nelle ultime due decadi abbiano suggerito l'ipotesi che il diabete e l'aterosclerosi possano essere le due facce della stessa medaglia, e la sindrome metabolica o sindrome da insulino-resistenza, sia a sua volta identificabile come la piattaforma comune delle due malattie (fig. 1)<sup>2</sup>. I risultati di diversi studi epidemiologici hanno ben evidenziato inoltre che sia l'insulino-resistenza sia la glucotossicità promuovono la malattia macrovascolare diabetica, sebbene con differente intensità e meccanismi<sup>2</sup>. Infatti, gli studi UKPDS, HPS e STENO-2 sono concordi nell'affermare che il controllo metabolico da solo non è sufficiente ad arrestare la progressione delle complicanze macrovascolari ma che è necessario un approccio terapeutico globale di tutti i fattori di rischio cardiovascolari come l'ipertensione arteriosa, la dislipidemia aterogena (basso HDL/ipertigliceridemia) e l'ipercolesterolemia per contenere la progressione e lo sviluppo delle complicanze del diabete<sup>3-5</sup>.

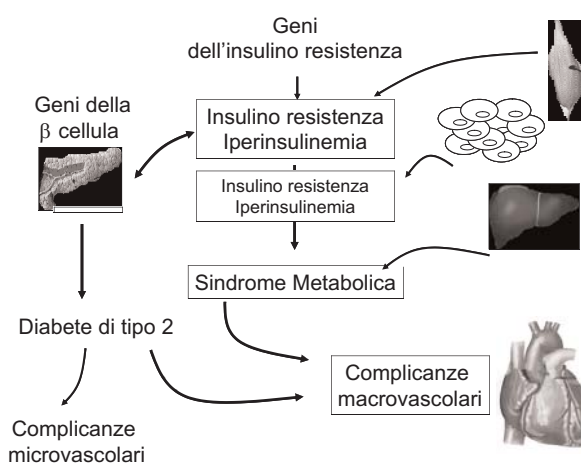
Dato che l'insulino resistenza è alla base dello sviluppo dell'iperglicemia ma anche degli altri principali fattori di rischio cardiovascolari come l'ipertensione e la dislipidemia aterogena (Fig.1), è possibile che le strategie terapeutiche mirate soprattutto a ridurre l'insulino-resistenza possano fornire una migliore protezione contro il diabete e l'aterosclerosi. Per esempio la Metformina, un farmaco ipoglicemizzante, è capace di agire sul muscolo scheletrico e sul fegato con un'azione insulino-sensibilizzante attraverso l'attivazione di AMPK<sup>6</sup>. E' stato dimostrato che la Metformina esercita effetti positivi nel diabete, ed in particolare nei soggetti obesi e diabetici, affetti da coronaropatia aterosclerotica, come suggerito da un'analisi di un sottogruppo della popolazione dell'UKPDS<sup>5</sup>.

Inoltre il recente studio clinico PROactive ha evidenziato come il Pioglitazone, altra molecola con proprietà sia insulino-sensibilizzanti che anti-infiammatorie, è capace di migliorare il controllo metabolico in pazienti già trat-

tati con la massima dose di insulina e con altri farmaci ipoglicemizzanti orali, determinando in questi soggetti una riduzione di eventi macrovascolari<sup>7,8</sup>.

Dato che l'insulino-resistenza costituisce la base fisiopatologica di tutti i maggiori fattori di rischio per lo sviluppo dell'Aterosclerosi, questo fatto è stato considerato una prova indiretta che l'insulina può agire proteggendo contemporaneamente il metabolismo del glucosio e la funzione vascolare. Recentemente i risultati del DCCT-EDIC hanno mostrato che nel diabete di tipo 1, la terapia insulinica intensiva protegge dalla progressione verso l'Aterosclerosi<sup>9</sup>.

E' stato suggerito inoltre che, alternativamente o anche contemporaneamente, l'iperinsulinemia, che costituisce la risposta fisiologica all'insulino-resistenza, può determinare stress ossidativo, probabilmente attraverso una disfunzione a livello mitocondriale<sup>10</sup>. Pertanto, nella storia naturale del diabete, lo stress ossidativo agirebbe sin dalle prime fasi dello sviluppo dell'aterosclerosi, inizialmente durante la fase di prediabete come risposta all'insulino-resistenza e poi, continuando ad agire più marcatamente quando l'iperglicemia franca causa gluco-



**Figura 1**  
Intersezione tra sindrome metabolica e diabete di tipo 2: il ruolo centrale dell'insulino-resistenza nella macroangiopatia

tossicità nei confronti del tessuto vascolare. La glucotossicità è il risultato dello shift del glucosio dalla via glicolitica alle vie metaboliche minori, come la via dei polioli, delle esosamine e degli AGEs<sup>11</sup>. Tutte queste vie incrementano lo stress ossidativo mediante la generazione dell'anione superossido ma almeno due di esse (esosamine e AGEs) bloccano allo stesso tempo il signalling dell'insulina, alterando l'attivazione della via metabolica del sistema di trasduzione del signalling insulinico (recettore insulinico (IR)/ substrato del recettore insulinico (IRS)/ fosfatidilinositolo 3-fosfato kinasi (PI 3-K)/ proteina kinasi B (Akt))<sup>12-14</sup>. Pertanto la glucotossicità, che è il risultato di una insulino-deficienza relativa o effettiva, stimola un circolo vizioso che conduce a diversi effetti, incluso la riduzione dell'azione insulinica.

### L'INSULINO RESISTENZA COME BASE COMUNE CONDIVISA DA DIABETE E ATEROSCLEROSI: I RISULTATI DA UN APPROCCIO GENOMICO FUNZIONALE

Gli studi sui parenti di primo grado di pazienti affetti da diabete di tipo 2 hanno evidenziato che anche nei soggetti gluco-tolleranti è possibile identificare coloro che presentano segni precoci sia di difetti nell'azione insulinica (insulino-resistenza) o difetti nella secrezione insulinica, o entrambe insieme<sup>15</sup>. Esistono anche chiare evidenze che alcuni genotipi, a cui corrispondo particolari fenotipi clinici, possono migliorare la comprensione dei meccanismi alla base della storia naturale del diabete, come anche di quale siano le vie più indicate da trattare per prevenire le complicanze diabetiche a lungo termine. Sfortunatamente gli studi genetici non sono stati in grado di identificare i geni esatti coinvolti nello sviluppo del diabete, almeno quelli utilizzabili per il calcolo del rischio. Ciononostante sono state identificate alcune varianti genetiche importanti per l'azione insulinica. In studi che includono pazienti con background genetici molto differenti si potrebbe ipotizzare che, anche in assenza di una forte associazione con la malattia, il rischio di sviluppo potrebbe essere calcolato in presenza di varianti genomiche con un effetto biologico conosciuto.

Pertanto, la presenza di una variante che si è dimostrata possedere un effetto negativo sul metabolismo glucidico e lipidico, potrebbe di per se costituire un rischio per lo sviluppo della malattia e i portatori di tale variante potrebbero ricevere un appropriato programma alimentare al fine di evitare comportamenti che possano incrementare il rischio di sviluppare diabete e aterosclerosi. La maggiore differenza tra gli studi di associazione/genetica e gli studi di genomica/funzionalità è il presupposto iniziale, cioè l'identificazione di markers di possibile malattia nel primo caso e l'identificazione di markers biologici nell'ultimo caso.

I dati desunti dai modelli animali possono in alcuni casi fornire spunti per cercare varianti con un ruolo patogenetico alla base dell'insulino-resistenza. I topi nulli per il Substrato 1 del Recettore Insulinico (IRS-1) presentano alcune caratteristiche della sindrome metabolica col-

legate ad una lieve insulino resistenza nel muscolo, nel fegato, nel tessuto adiposo, nel sistema vascolare e nelle cellule beta pancreatiche, determinate dall'assenza del maggiore substrato del recettore insulinico<sup>16</sup>. Nel gene IRS-1, la sostituzione della Glicina con l'Arginina sul codone 972 (G972R IRS-1) causa una riduzione nella capacità dell'IRS-1 di avvicinare e attivare PI3 Kinasi<sup>12</sup>. Dato che altri laborati hanno descritto un effetto di questa variante sui livelli insulinici e del peptide-c come accade nella malattia coronarica, abbiamo studiato il suo ruolo funzionale sulla beta cellula pancreatica, sulla cellula muscolare e sulla cellula endoteliale, utilizzando in molti casi cellule provenienti da soggetti portatori della variante<sup>17-24</sup>. La variante G972R di IRS-1 peggiora l'azione insulinica interferendo sulla capacità di IRS-1 di reclutare la subunità di PI 3-K, diminuendo così la possibilità di legare e attivare la subunità catalitica P110 dell'enzima. Come risultato, nelle cellule che esprimono la variante G972R di IRS-1, l'attività della via metabolica del signalling insulinico (IR/IRS/PI 3-K/Akt) che regola il trasporto del glucosio e prende parte al processo di secrezione insulinica e la sopravvivenza della cellula beta, sono ridotte del 30-40%, se paragonata alle cellule che esprimono la variante WT di IRS-1<sup>17-21</sup>. Più recentemente, abbiamo analizzato gli effetti biologici della variante G972R di IRS-1 sulle cellule endoteliali. Abbiamo osservato che la presenza di un difetto che riduce l'attivazione della via PI 3K/Akt determina un'alterazione dell'attività dell'ossido nitrico sintetasi (evento Akt dipendente) e una conseguente riduzione della disponibilità di ossido nitrico<sup>22</sup>. Pertanto, la presenza di un difetto genetico che altera la funzione dell'insulina può compromettere la funzione endoteliale, che costituisce la prima alterazione della funzione vascolare nel lungo percorso che porta all'aterosclerosi. Quindi, utilizzando due differenti modelli, abbiamo dimostrato che questa variante aumenta il rischio di disfunzione endoteliale e di aterosclerosi. Infatti, sia nei parenti di primo grado di soggetti diabetici con un normale metabolismo glicidico che nei soggetti con neodiagnosi di ipertensione, coloro che portano la variante G972R di IRS-1 mostrano un fenotipo ancora più complesso caratterizzato da una serie di difetti che li avvicinano alla sindrome metabolica (insulino-resistenza, dislipidemia aterogena, ipertensione) rispetto a coloro che portano la variante WT<sup>23,24</sup>.

E' stato descritto, in maniera interessante, che i topi nulli per eNOS sono caratterizzati da un fenotipo tipico della sindrome metabolica<sup>25,26</sup>. Essendo noto che la variante D298E di eNOS determina una riduzione della attività dell'enzima quando le cellule sono poste in situazioni di stress, abbiamo ipotizzato che i portatori di questa variante possano manifestare segni di insulino resistenza rispetto ai non portatori. Infatti, i parenti di primo grado di soggetti diabetici, omozigoti per la variante D298 di eNOS, mostrano insulino resistenza, aterosclerosi precoce e segni di dislipidemia aterogena se confrontati ai portatori del gene WT<sup>27</sup>.

Un altro marker genetico di diabete potenzialmente collegabile all'aterosclerosi è costituito dalla variante

Pro12Ala di PPAR- $\alpha$ , che può modulare l'attività di un recettore nucleare sia negli adipociti che nelle cellule della parete vascolare (per una rassegna vedi rif. 28). L'identificazione di altre varianti genetiche collegabili all'insulino-resistenza e all'aterosclerosi precoce può certamente migliorare la nostra strategia di identificazione dei soggetti a rischio.

### GLI EFFETTI DELLA GLUCOTOSSICITÀ SULL'AZIONE INSULINICA E IL SUO RUOLO NELL'ATEROSCLEROSI

E' risaputo che l'iperglicemia causa l'attivazione dell'endotelio determinando così disfunzione endoteliale<sup>29</sup>. Nei soggetti insulino-resistenti quest'effetto è additivo a quelli precedentemente descritti. Comunque, nei soggetti che portano un difetto maggiore nel controllo della funzione delle beta cellule pancreatiche, l'iperglicemia potrebbe svilupparsi anche in assenza di insulino-resistenza, come nei soggetti affetti da MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young). L'iperglicemia potrebbe alterare gli effetti positivi dell'insulina sull'omeostasi vascolare, peggiorando in particolar modo la produzione di ossido nitrico. Abbiamo recentemente dimostrato che l'attivazione specifica della via delle esosamine nelle cellule endoteliali potrebbe ridurre l'attività di e-NOS, e condurre così alla perdita degli effetti antiaterogenici dell'ossido nitrico, incluso il controllo dell'espressione e dell'attività delle metalloproteasi (MMP) 2 e 9<sup>13</sup>. Anche altri gruppi hanno interpretato l'incrementata attività di MMP9 nelle cellule endoteliali come una conseguenza dell'iperglicemia<sup>19</sup>. Inoltre, è noto che l'MMP-9 è aumentato nei soggetti con diabete e coronaropatia<sup>30</sup>. Dato che l'attivazione della via delle esosamine è una conseguenza dell'aumentato stress ossidativo, diviene interessante verificare se questa via può essere attivata anche da altri fattori di rischio per l'aterosclerosi come l'ipercolesterolemia e il fumo.

### LO STRESS OSSIDATIVO E L'INFIAMMAZIONE NELL'INSULINO RESISTENZA E NELL'ATEROSCLEROSI

La causa principale di disfunzione endoteliale e di aterosclerosi nei soggetti diabetici di tipo 2 è quindi l'alterata funzione dell'insulina causata da una sua deficienza relativa (insulino resistenza) o assoluta. Comunque recenti osservazioni suggeriscono che lo stress ossidativo e l'infiammazione potrebbero determinare l'insulino resistenza. Infatti, l'attivazione di IKK $\beta$  nel fegato e nei macrofagi, secondaria all'infiammazione o agli acidi grassi liberi, potrebbe alterare la capacità di IRS-1 di attivare la via metabolica del signalling insulinico<sup>31,32</sup>. La combinazione di fumo e ipercolesterolemia determina un grande incremento dello stress ossidativo nell'organismo, e questo, in maniera interessante, può determinare insulino-resistenza. Un recente studio europeo sulla prevalenza del diabete nei pazienti cardiopatici ha confermato che i disturbi del metabolismo glicidico non sono diagnosticati (e di conseguenza non trattati) almeno nel 50-60% di questi soggetti<sup>33</sup>. Questa osservazione con-

duce a due considerazioni. La prima, che i pazienti affetti da cardiopatia ischemica, con un pregresso infarto del miocardio e con diabete, hanno una mortalità più alta se confrontati a coloro che presentano solamente una delle due patologie; pertanto il diabete o la ridotta tolleranza glucidica potrebbe essere trattato al fine di diminuire la mortalità cardiovascolare in questi pazienti. Secondo, l'aumento sempre più incipiente della prevalenza di diabete potrebbe essere il risultato di uno stress ossidativo eccessivo in questa categoria di pazienti, che non è adeguatamente trattata con l'utilizzo di farmaci quali le statine o gli ACE inibitori. Inoltre le analisi statistiche non hanno rilevato alcuna differenza significativa, tra le tre categorie di pazienti (i normotolleranti, quelli con ridotta tolleranza al glucosio e i diabetici) nell'assunzione di farmaci di cui è conosciuto l'effetto negativo sul metabolismo glicidico. Per cui è possibile ipotizzare che l'aumento dello stress ossidativo peggiori il metabolismo glicidico in una parte dei pazienti con cardiopatia ischemica e infarto del miocardio anche in presenza di trattamento farmacologico ottimale.

Lo studio PROactive ha dimostrato l'effetto positivo del Pioglitazone sulla mortalità, una riduzione dei casi di infarto del miocardio e stroke, sebbene alcuni di questi pazienti possano sviluppare insufficienza cardiaca<sup>8</sup>. Dato che il Pioglitazone è un ligando di PPAR- $\gamma$  con una modesta capacità anche di legare PPAR- $\alpha$ , è possibile che alcuni degli effetti della molecola siano dovuti a questa doppia natura<sup>34</sup>. Comunque i dati sui modelli animali suggeriscono inoltre che PPAR- $\gamma$  può essere in grado di proteggere sia dal diabete sia dall'aterosclerosi, agendo sia sul tessuto adiposo che sulla parete vascolare<sup>34,35</sup>. Una sintesi delle proprietà antidiabetiche, antiinfiammatorie e antiaterogeniche sono mostrate nella Figura 2.

### IL TESSUTO ADIPOSO: UN AMBIENTE FORMIDABILE E DINAMICO

Il tessuto adiposo veniva considerato fino a qualche anno fa solo come un sistema composto dagli adipociti e da altri diversi tipi cellulari che sostenevano il ruolo di deposito delle riserve energetiche<sup>36</sup>. Tuttavia, la scoperta di citochine prodotte specificamente dal tessuto adiposo come la Leptina e l'adiponectina ne ha di fatto trasformato il ruolo ad organo endocrino a tutti gli effetti. Sebbene la scoperta di queste cosiddette adipochine sia recente diverse osservazioni suggeriscono che l'adiponectina in modo particolare, visto il suo legame con il TNF-alfa, sia connessa con lo sviluppo di complicanze macrovascolari nei soggetti obesi e insulino-resistenti<sup>37</sup>. Tuttavia la scoperta più determinate di questi ultimi anni è la presenza di un intenso infiltrato infiammatorio nel tessuto adiposo dei soggetti obesi insulino-resistenti, in cui l'entità dell'infiltrato è connessa sia alla produzione di citochine infiammatorie sia di FFA circolanti<sup>38-40</sup>. Da un punto di vista fisiologico adipocita e macrofago sono imparentati per alcuni aspetti e in condizioni di insulino-resistenza alcuni programmi di espressione genica "infiammatoria" sembrano controllati proprio dal segnale

dell'insulina<sup>41</sup>.

**CONCLUSIONI**

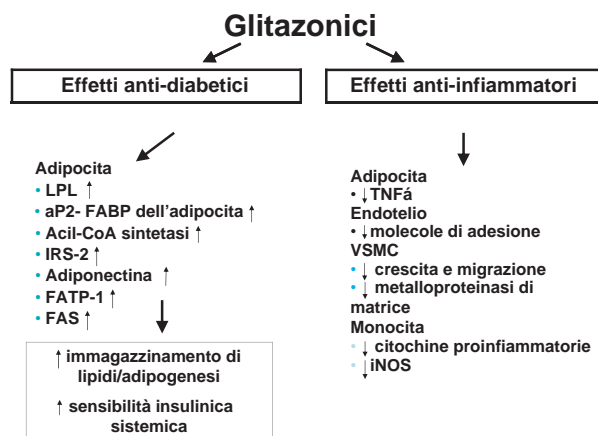
Il diabete di tipo 2 e la malattia aterosclerotica condividono meccanismi comuni in grado di alterare l'omeostasi vascolare e il metabolismo glicidico. L'ipotesi che l'insulina resistenza sia il maggiore tra questi, capace di legare diabete e aterosclerosi, è oggi surrogata da diverse evidenze sperimentali, cliniche ed epidemiologiche. Da questo punto di vista, si può descrivere un nuovo

scenario nel quale il controllo del metabolismo glucidico e della funzione endoteliale, e l'aterosclerosi sono a stretto contatto, con un continuo interscambio tra le due malattie (Fig 3).

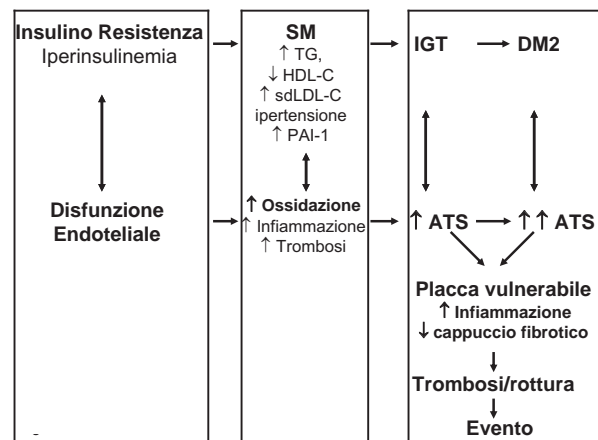
E' auspicabile che terapie specifiche capaci di migliorare la sensibilità insulinica possano determinare un beneficio sia nei confronti del diabete che della malattia coronarica.

**REFERENCES**

- Ginsberg HN Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest.* 2000 106:453-8
- Beckman JA, Creager MA, Libby P .Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA* 2002; 287:2570-81
- Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet.* 1998; 352:837-53.
- Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GV, Parving HH, Pedersen O.Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2003; 348:383-93.
- Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet.* 1998; 352:854-65.
- Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody J, Wu M, Ventre J, Doebber T, Fujii N, Musi N, Hirshman MF, Goodyear LJ, Moller DE. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest.* 2001; 108:1167-74.
- Dormandy JA, Charbonnel B, Eckland DJ, Erdmann E, Massi-Benedetti M, Moules IK, Skene AM, Tan MH, Lefebvre PJ, Murray GD, Standl E, Wilcox RG, Wilhelmsen L, Betteridge J, Birkeland K, Golay A, Heine RJ, Koranyi L, Laakso M, Mokan M, Norkus A, Pirags V, Podar T, Scheen A, Scherbaum W, Schernthaner G, Schmitz O, Skrha J, Smith U, Taton J; PROactive investigators. Secondary prevention of macrovascular events in patients with type 2 diabetes in the PROactive Study (PROspective pioglitAzone Clinical Trial In macroVascular Events): a randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 366:1279-89
- Yki-Jarvinen H. The PROactive study: some answers, many questions. *Lancet.* 2005; 366:1241-2.
- Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, Genuth SM, Lachin JM, Orchard TJ, Raskin P, Zinman B; Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC) Study Research Group. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2005; 353:2643-53.
- Savage DB, Petersen KF, Shulman GI. Mechanisms of insulin resistance in humans and possible links with inflammation. *Hypertension.* 2005; 45:828-33.
- Brownlee M.Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001; 414:813-20
- Virkamaki A, Ueki K, Kahn CR Protein-protein interaction in insulin signaling and the molecular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest.* 1999;103:931-43
- Federici M, Menghini R, Hribal ML, Mauriello A, Ferrelli F, Lauro D, Sbraccia P, Spagnoli LG, Sesti G, Lauro R. "Insulin-dependent activation of eNOS is impaired by O-linked-glycosylation modification of signaling proteins in



**Figura 2**  
Effetti anti-diabetici e anti-aterosclerotici dei glitazonici (ligandi di PPARγ). (LPL, lipoproteinlipasi; AP2-FABP, Fatty Acid Binding Protein, Proteina Legante gli Acidi Grassi; IRS-2, Insulin Receptor Substrate 2; FATP-1, Fatty Acid Transporter 1, trasportatore 1 degli acidi grassi; FAS, Fatty Acid Synthase, sintetasi degli acidi grassi; TNF-alpha, Tumor Necrosis Factor alpha; VSMC, Vascular smooth muscle cells, cellule muscolari lisce; iNOS, inducible Nitric Oxide Synthase, sintetasi inducibile dell'ossido nitrico)



**Figura 3**  
La strada comune tra diabete di tipo 2 e aterosclerosi (SM, Sindrome Metabolica; TG, Trigliceridi, ATS, aterosclerosi; HDL-C, colesterolo HDL; sdLDL-C, LDL piccole e dense; PAI-1, Plasminogen Activator Inhibitor 1; IGT, alterata tolleranza ai carboidrati; DM2, diabete mellito di tipo 2)

- human coronary endothelial cells". *Circulation*. 2002;106:466-72.
14. Miele C, Riboulet A, Maitan MA, Oriente F, Romano C, Formisano P, Giudicelli J, Beguinot F, Van Obberghen E. Human glycated albumin affects glucose metabolism in L6 skeletal muscle cells by impairing insulin-induced insulin receptor substrate (IRS) signaling through a protein kinase C alpha-mediated mechanism. *J Biol Chem*. 2003; 278:47376-87
  15. Beguinot F, Haring H, Kiess W, Klein H, Sesti G, Smith U, Van Obberghen E. The Search for NIDDM genes project: a European Community programme aimed to facilitate the identification of NIDDM genes. *Diabetologia*. 1998; 41:suppl 15
  16. Abe H, Yamada N, Kamata K, Kuwaki T, Shimada M, Osuga J, Shionoiri F, Yahagi N, Kadowaki T, Tamemoto H, Ishibashi S, Yazaki Y, Makuuchi M. Hypertension, hypertriglyceridemia, and impaired endothelium-dependent vascular relaxation in mice lacking insulin receptor substrate-1. *J Clin Invest*. 1998; 101:1784-8.
  17. Imai Y, Fusco A, Suzuki Y, Lesniak MA, D'Alfonso R, Sesti G, Bertoli A, Lauro R, Accili D, Taylor SI. Variant sequences of insulin receptor substrate-1 in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994; 79:1655-8
  18. Porzio O, Federici M, Hribal ML, Lauro D, Accili D, Lauro L, Borboni P, Sesti G. "The Gly 972 Arg amino acid polymorphism in IRS-1 impairs insulin secretion in pancreatic  $\beta$  cells". *J. Clin. Invest*. 1999; 104:357-364
  19. Hribal ML, Federici M, Porzio O, Lauro D, Borboni P, Accili D, Lauro R, Sesti G. "The Gly-Arg972 amino acid polymorphism in IRS-1 affects glucose metabolism in skeletal muscle cells". *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2000; 85: 2004-2013
  20. Federici M, Hribal ML, Ranalli M, Marselli L, Porzio O, Lauro D, Borboni P, Lauro R, Marchetti P, Melino G, Sesti G. "The common Arg972 polymorphism in insulin receptor substrate-1 causes apoptosis of human pancreatic islets". *FASEB J* 2001; 15:22-24
  21. Marchetti P, Lupi R, Federici M, Marselli L, Del Guerra S, Patané G, Purrello F, Lauro R, Sesti G, Del Prato S. "The function and survival of isolated human islets carrying the Arg972 IRS-1 polymorphism". *Diabetes*. 2002; 51:1419-24
  22. Federici M, Pandolfi A, De Filippis EA, Pellegrini G, Menghini R, Lauro D, Cardellini M, Romano M, Sesti G, Lauro R, Consoli A. "G972R IRS-1 variant impairs insulin regulation of endothelial nitric oxide synthase in cultured human endothelial cells". *Circulation*. 2004; 109:399-405.
  23. Marini MA, Frontoni S, Mineo D, Bracaglia D, Cardellini M, De Nicolais P, Baroni A, D'Alfonso R, Perna M, Lauro D, Federici M, Gambardella S, Lauro R, Sesti G. "The Arg972 variant in insulin receptor substrate-1 is associated with an atherogenic profile in offspring of type 2 diabetic patients". *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88:3368-71
  24. Perticone F, Sciacqua A, Scozzafava A, Ventura G, Laratta E, Pujia A, Federici M, Lauro R, Sesti G. "Impaired endothelial function in never-treated hypertensive subjects carrying the arg972 polymorphism in the insulin receptor substrate-1 gene" *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:3606-9
  25. Shankar RR, Wu Y, Shen HQ, Zhu JS, Baron AD. Mice with gene disruption of both endothelial and neuronal nitric oxide synthase exhibit insulin resistance. *Diabetes*. 2000; 49:684-7.
  26. Duplain H, Burcelin R, Sartori C, Cook S, Egli M, Lepori M, Vollenweider P, Pedrazzini T, Nicod P, Thorens B, Scherrer U. Insulin resistance, hyperlipidemia, and hypertension in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2001; 104:342-5
  27. Rizza S, Tesauro M, Cardellini M, Menghini R, Bellia A, Marini MA, Lauro D, Sbraccia P, Sesti G, Lauro R, Federici M. Insulin resistance and increased intimal medial thickness in glucose tolerant offspring of type 2 diabetic subjects carrying the D298D genotype of endothelial nitric oxide synthase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006; 26:431-2.
  28. Knouff C, Auwerx J. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma calls for activation in moderation: lessons from genetics and pharmacology. *Endocr Rev*. 2004; 25:899-918.
  29. Uemura S, Matsushita H, Li W, Glassford AJ, Asagami T, Lee KH, Harrison DG, Tsao PS. Diabetes mellitus enhances vascular matrix metalloproteinase activity: role of oxidative stress. *Circ Res*. 2001; 88:1291-8.
  30. Marx N, Froehlich J, Siam L, Ittner J, Wierse G, Schmidt A, Scharnagl H, Hombach V, Koenig W. Antidiabetic PPAR gamma-activator rosiglitazone reduces MMP-9 serum levels in type 2 diabetic patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23:283-8.
  31. Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, Shoelson SE. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med*. 2005; 11:183-90.
  32. Arkan MC, Hevener AL, Greten FR, Maeda S, Li ZW, Long JM, Wynshaw-Boris A, Poli G, Olefsky J, Karin M. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med*. 2005; 11:191-8
  33. Bartnik M, Rydén L, Ferrari R, Malmberg K, Pyörälä K, Simoons M, Standl E, Soler-Soler J, Öhrvik J on behalf of the Euro Heart Survey Investigators. The prevalence of abnormal glucose regulation in patients with coronary artery disease across Europe: The Euro Heart Survey on diabetes and the heart. *Eur Heart J* 2004; 25: 1880-1890.
  34. Li AC, Binder CJ, Gutierrez A, Brown KK, Plotkin CR, Pattison JW, Valledor AF, Davis RA, Willson TM, Witztum JL, Palinski W, Glass CK. Differential inhibition of macrophage foam-cell formation and atherosclerosis in mice by PPARalpha, beta/delta, and gamma. *J Clin Invest*. 2004; 114:1564-76.
  35. Li AC, Brown KK, Silvestre MJ, Willson TM, Palinski W, Glass CK. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit development of atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest*. 2000; 106:523-31.
  36. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*. 2005;115:1111-9
  37. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev*. 2005;26:439-51.
  38. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003 Dec;112(12):1796-808.
  39. 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;112:1821-30.
  40. Weisberg SP, Hunter D, Huber R, Lemieux J, Slaymaker S, Vaddi K, Charo I, Leibel RL, Ferrante AW Jr. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J Clin Invest*. 2006; 116:115-24.
  41. Menghini R, Marchetti V, Cardellini M, Hribal ML, Mauriello A, Lauro D, Sbraccia P, Lauro R, Federici M. Phosphorylation of GATA2 by Akt increases adipose tissue differentiation and reduces adipose tissue-related inflammation: a novel pathway linking obesity to atherosclerosis. *Circulation*. 2005;111:1946-53.