

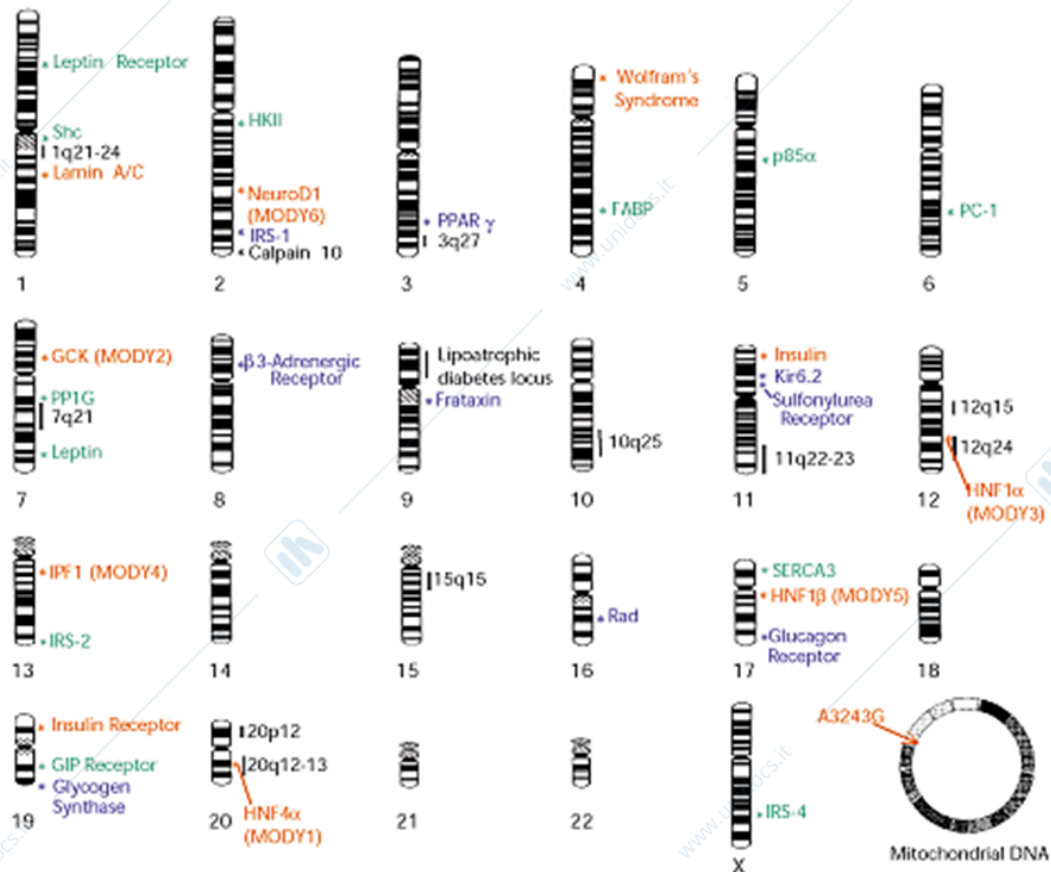
Lezione 1,

Modelli murini di diabete di tipo 2

Il diabete mellito non insulino-dipendente (NIDDM; diabete di tipo 2) è una malattia poligenica eterogenea complessa caratterizzata principalmente da:

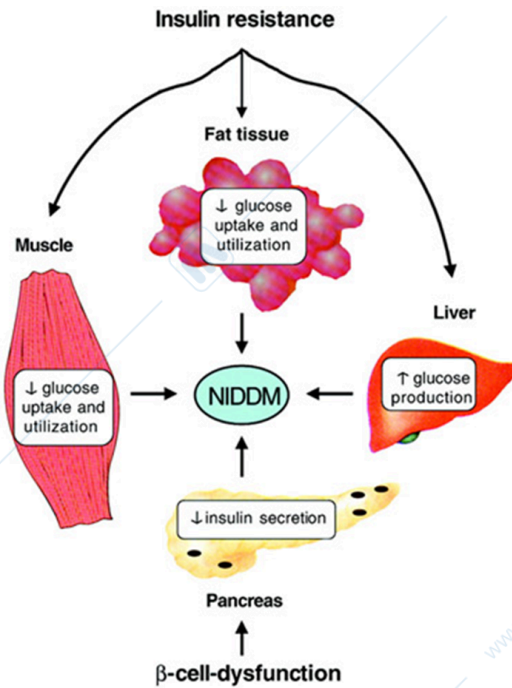
- resistenza all'insulina
- secrezione di insulina alterata

Localizzazione dei potenziali geni del diabete di tipo II.



Diversi loci sono stati identificati tramite studi di linkage (nero). Altri loci includono geni per forme monogeniche di diabete (rosso), geni candidati che hanno mostrato qualche prova di associazione (blu) e geni candidati con noti polimorfismi di amminoacidi (verde).

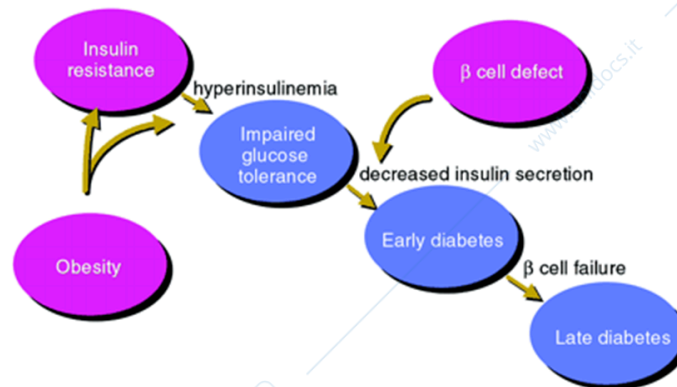
Lezione 1,



- Resistenza all'insulina è definita come uno stato di ridotta reattività alla normalità concentrazioni circolanti di insulina
- Resistenza all'insulina nei tessuti bersaglio, insieme a fallimento cellulare, porta al diabete mellito non insulino-dipendente

**Fase iniziale:
insulina periferica resistenza**

Metabolic staging of Type 2 diabetes

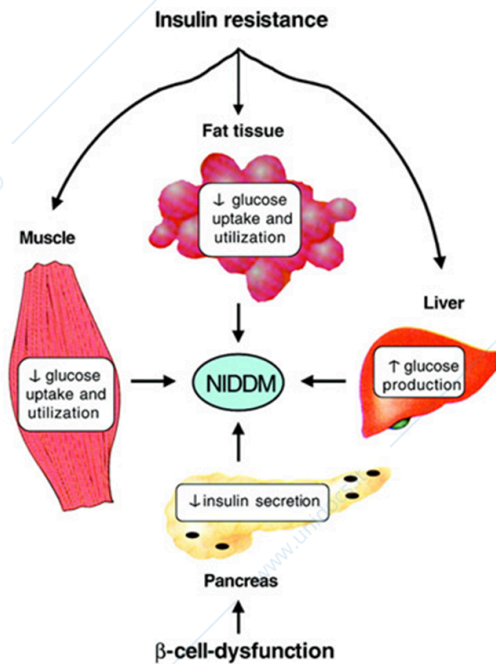


**Fase avanzata:
perdita di secrezione di
insulina**

Lezione 1,

Azioni dell'insulina:

per promuovere il trasporto del glucosio nei muscoli e negli adipociti per inibire la produzione



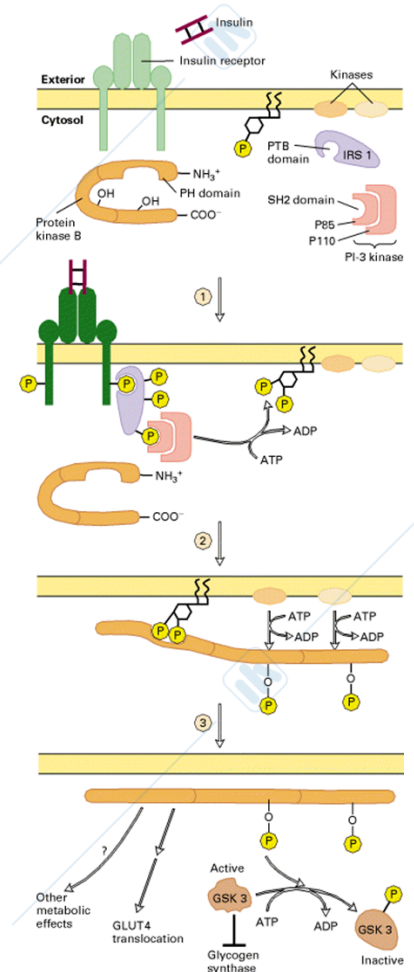
epatica di glucosio

1. Legame dell'insulina
2. autofosforilazione di IR e fosforilazione di IRS1
3. reclutamento della PI-3 chinasi
4. reclutamento e attivazione di PKB

La PKB attivata viene rilasciata dalla membrana e favorisce l'assorbimento del glucosio da parte del trasportatore GLUT4 e la sintesi del glicogeno.

Assorbimento del glucosio deriva dalla traslocazione del trasportatore del glucosio GLUT4 dalle vescicole intracellulari alla membrana plasmatica.

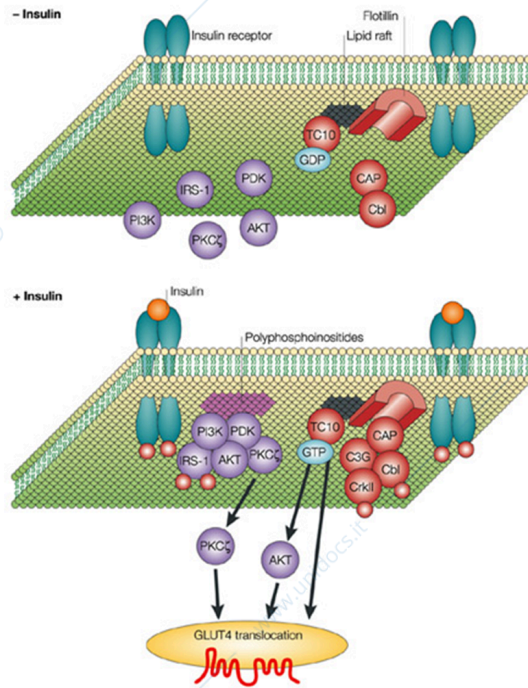
Sintesi del glicogeno avviene tramite la fosforilazione catalizzata da PKB della glicogeno sintasi chinasi 3 (GSK3), convertendola dalla sua forma attiva a quella inattiva. Di conseguenza, l'inibizione della glicogeno sintasi mediata da GSK3 viene alleviata, promuovendo la sintesi del glicogeno.



Lezione 1,

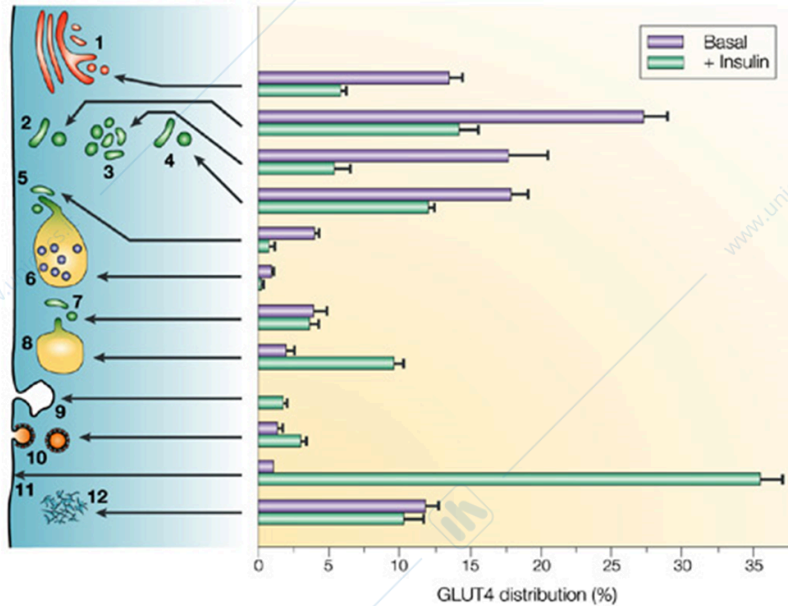
**TRASPORTO
REGOLATO DEL
TRASPORTATORE
E DI GLUCOSIO
GLUT4**

**Percorsi di
segnalazione
dell'insulina che
controllano il
trasporto del
glucosio nelle
cellule muscolari
e adipose**



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

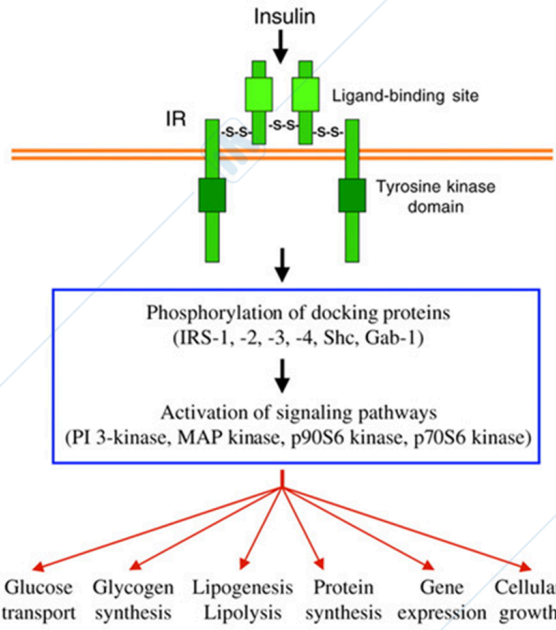
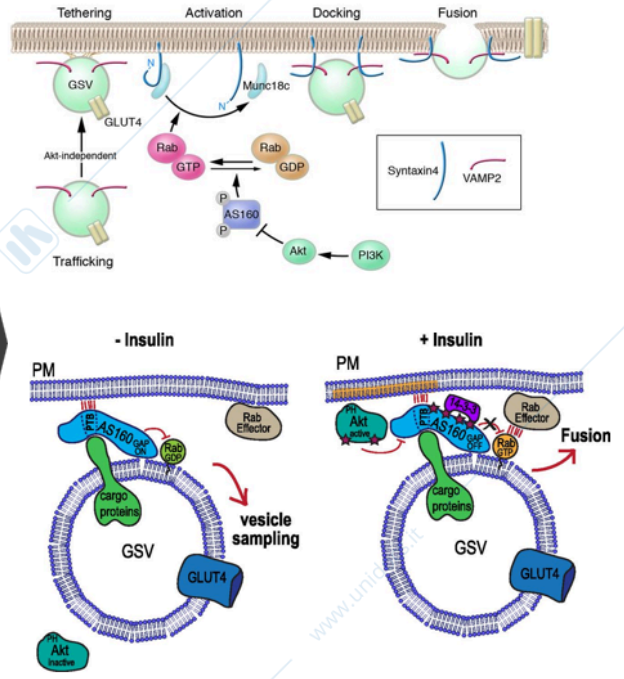
Distribuzione relativa di GLUT4 negli organelli delle cellule del tessuto adiposo bruno non stimolato e stimolato dall'insulina



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Lezione 1,

**TRASPORTO
REGOLATO
DEL
TRASPORTAT
ORE DI
GLUCOSIO
GLUT4**



La segnalazione dell'insulina attraverso IR porta ad effetti pleiotropici nelle cellule bersaglio

Lezione 1,

Modelli di topi con alterata secrezione di insulina

Modelli di topi con alterata segnalazione di insulina

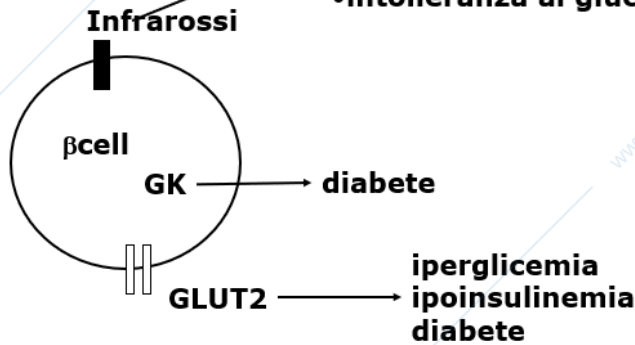
Modelli genetici del diabete di tipo 2

Modelli di topi con secrezione di insulina alterata

Ins1^{-/-}Ins2^{-/-}:
•diabete grave

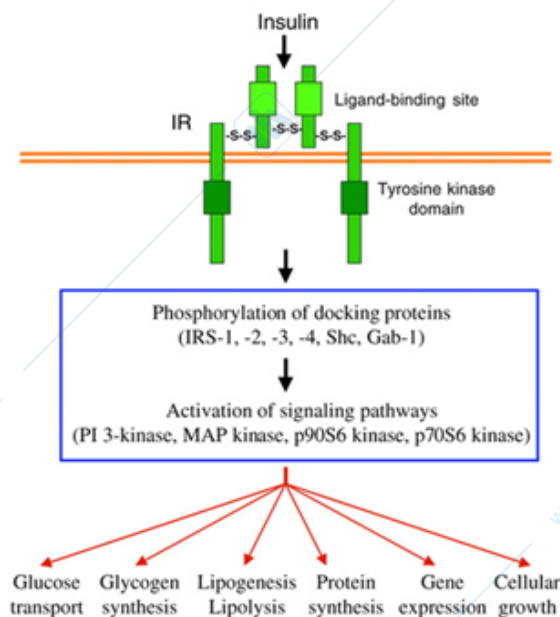
KO singoli:
•normale

•perdita selettiva della secrezione di insulina in risposta al glucosio
•intolleranza al glucosio



Lezione 1,

Modelli di topi con segnalazione difettosa dell'insulina



Topi knockout privi del recettore dell'insulina (IR)

Natura Genet. 1996, 12, 106–109

Infrarossi–/–cuccioli:

- sviluppare una forma grave di diabete con chetoacidosi.
- i loro livelli di trigliceridi e FFA sono innalzato, portando alla steatosi epatica.
- hanno ridotto il glicogeno epatico contenuto.
- mostra un postnatale marcato ritardo della crescita e ipotrofia del muscolo scheletrico.
- bianco e il tessuto adiposo bruno è presente, ma in quantità ridotte.
- il contenuto di grasso cellulare è stato notevolmente ridotto

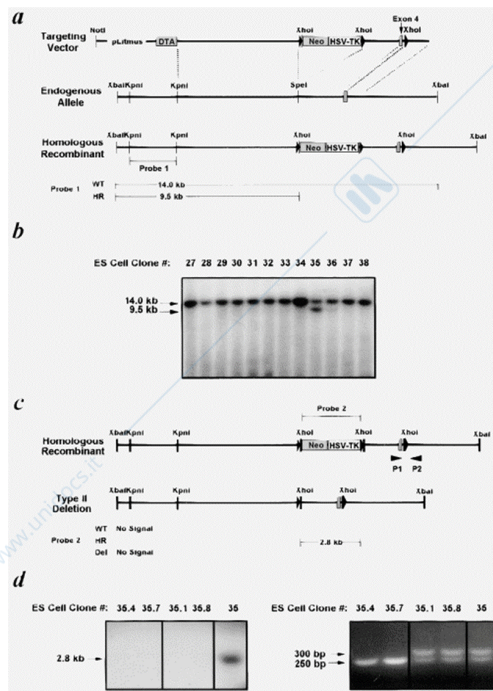
Muscolo specifico IR KO=MIRKO

Cellula Mol. 1998, 2, 559–569

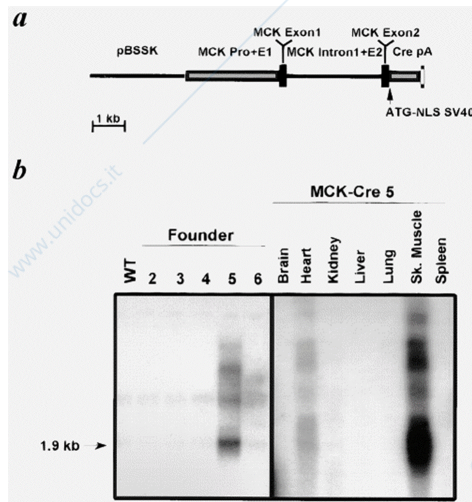
- Generazione di topi floxed
- Riproduzione di topi floxed con topi transgenici che esprimono la ricombinasi cre sotto uno specifico promotore
- Analisi dell'espressione del gene di interesse per verificare il KO tessuto-specifico
- Analisi funzionale del gene knock-out
- Analisi del fenotipo

Lezione 1,

LoxP Targeting dell'*InfrarossiGene*

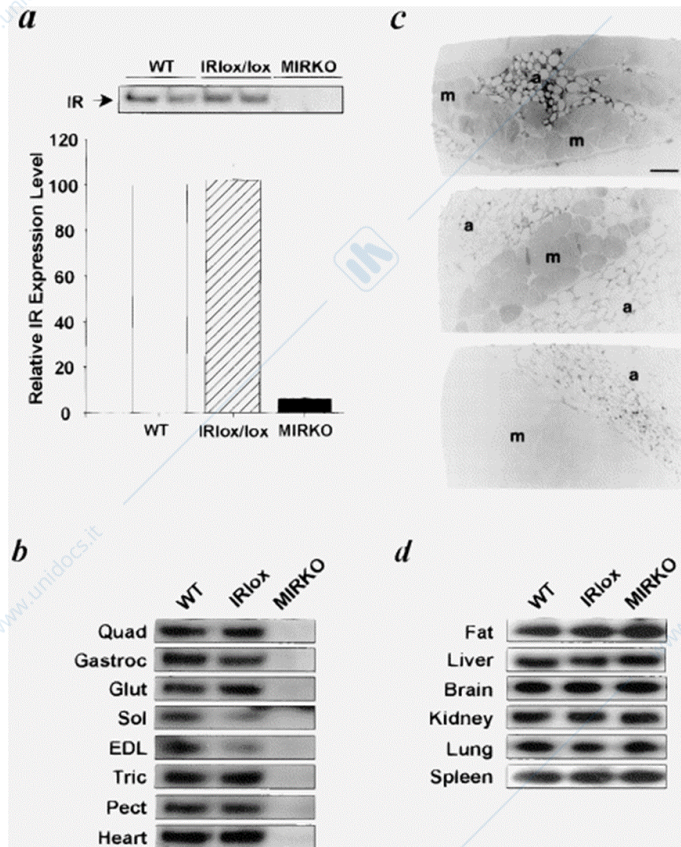


Espressione muscolo-specifica della Cre Ricombinasi Promotore della creatina chinasi muscolare



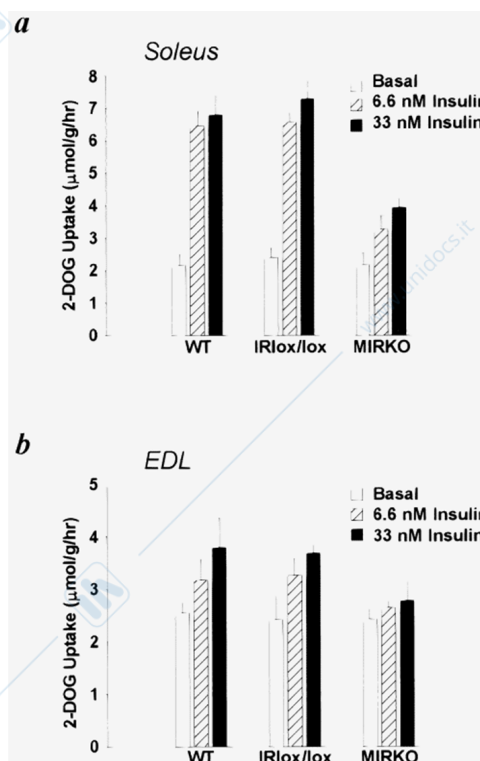
I topi MIRKO mostrano un'inattivazione ad alta efficienza dell'*InfrarossiGene* selettivamente nel muscolo scheletrico e nel cuore

Lezione 1,



Trasporto del glucosio stimolato dall'insulina nel muscolo scheletrico isolato

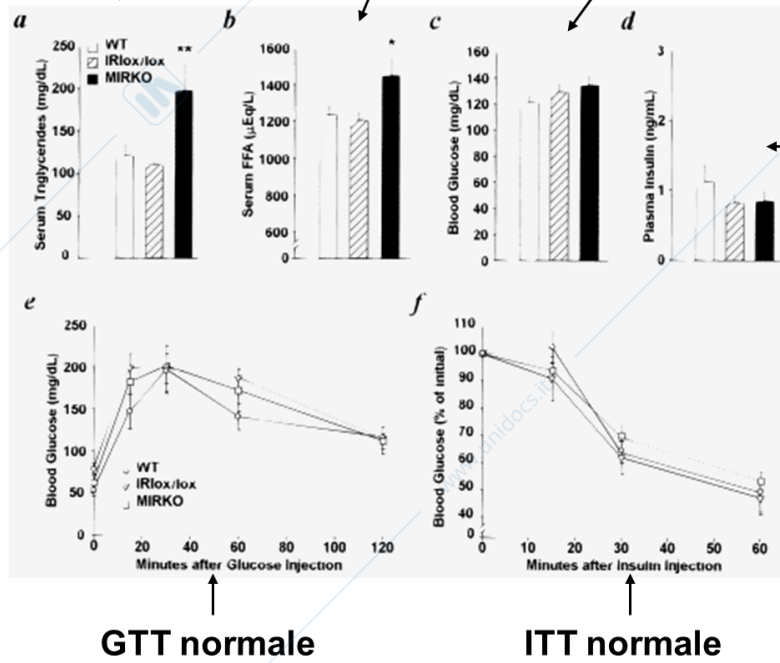
Nonostante l'assorbimento alterato del glucosio stimolato dall'insulina nello scheletro muscolo, questi topi hanno massa grassa elevata, trigliceridi sierici, e FFA, ma la loro glicemia, insulina sierica e glucosio la tolleranza è normale.



Lezione 1,

trigliceridi sierici elevati e FFA

glicemia normale

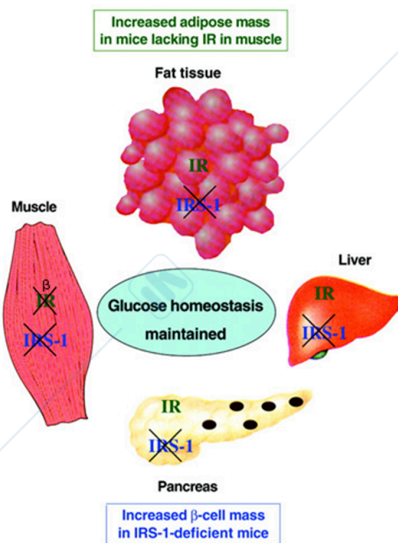


insulin a sierica normale

Conseguenza fisiologica della specificazione muscolare *Infraross* inattivazione genica

Nonostante l'assorbimento alterato del glucosio stimolato dall'insulina nello scheletro muscoli, il loro glucosio nel sangue, l'insulina sierica e il glucosio la tolleranza è normale. Questi topi hanno massa grassa elevata, trigliceridi sierici, e FFA.

L'omeostasi del glucosio è mantenuta in MIRKO e IRS-1^{-/-} topi a causa di cambiamenti compensatori nei singoli organi. Nei topi MIRKO, il glucosio viene deviato dal muscolo al grasso.

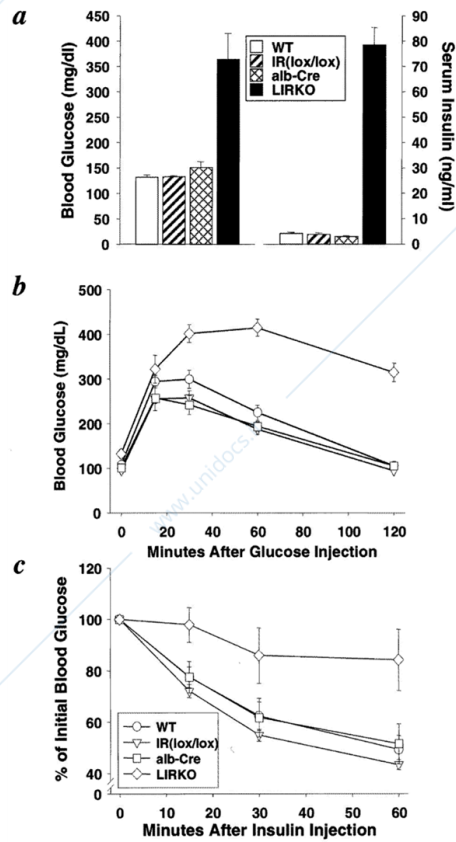


Lezione 1,

IR specifico del fegato KO=LIRKO

Cellula Mol. 2000, 6, 87-97

I topi LIRKO mostrano iperglicemia e iperinsulinemia, intolleranza al glucosio e resistenza all'insulina



Parametri metabolici

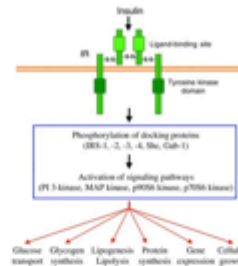
	2 Months		6 Months	
	Control	LIRKO	Control	LIRKO
Glucose (mg/dl)				
Fasted	101 ± 3	132 ± 10 ^b	91 ± 4	70 ± 6 ^a
Fed	136 ± 4	363 ± 52 ^b	127 ± 7	216 ± 42 ^b
Insulin (ng/ml)				
Fasted	0.63 ± 0.24	4.56 ± 0.17 ^b	0.53 ± 0.11	4.57 ± 0.89 ^b
Fed	3.37 ± 0.31	78.5 ± 6.9 ^b	4.13 ± 0.65	92.0 ± 27.2 ^b
Glucagon (pg/ml)	75.0 ± 2.4	63.2 ± 22.1 (NS)	ND	ND
Triglycerides (mg/dl)	87.8 ± 5.1	43.6 ± 4.7 ^a	115.2 ± 7.9	62.0 ± 2.5 ^a
Free fatty acids (mM)	0.83 ± 0.03	0.52 ± 0.05 ^b	1.12 ± 0.04	0.84 ± 0.06 ^a

I risultati sui topi LIRKO implicano un ruolo molto più importante del fegato nel controllo dell'omeostasi del glucosio rispetto a quanto riconosciuto in precedenza

Lezione 1,

Modelli di topi con segnalazione difettosa dell'insulina

Topi knockout privi di IRS *Natura 1994, 372, 186-190*



I topi privi di IRS1 erano:

•resistente agli effetti ipoglicemizzanti di insulina, IGF-1 e IGF-2.

Nonostante la loro resistenza all'insulina, hanno mostrato:

- glicemia a digiuno normale;
- glucosio normale o lieve intolleranza



**iperinsulinemia
compensatoria
era causata da
iperplasia
selettiva delle
cellule β**

Topi IRS2 KO(*Natura 1998, 391, 900-904*)

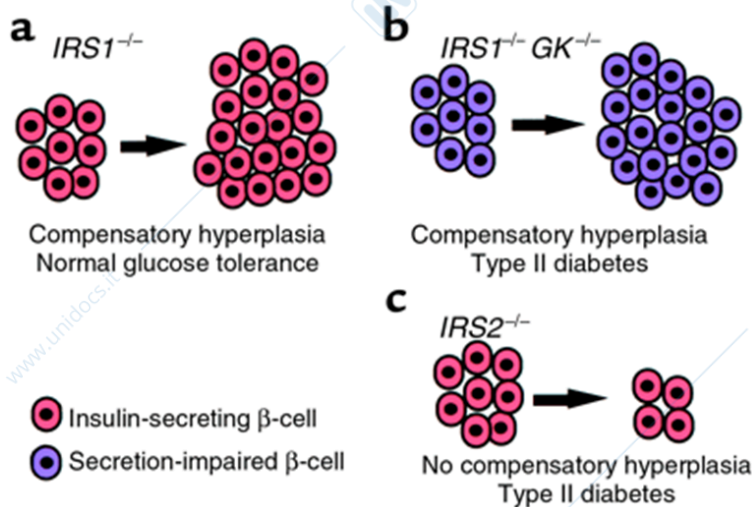
- sviluppare una marcata e progressiva intolleranza al glucosio
- avere il diabete conclamato a 10 settimane
- impedisce Compensazione delle cellule β per la resistenza all'insulina

GK (glucosio chinasi)beta-topi KO a cellule(*Terauchi,Anno 1995*)

- Gli omozigoti hanno mostrato un diabete grave subito dopo la nascita e sono morti entro una settimana
- I topi eterozigoti con knockout del gene della glucocinasi delle cellule beta (GK) hanno mostrato una ridotta tolleranza al glucosio a causa della ridotta secrezione di insulina nel glucosio.

Modelli di topi poligenici di NIDDM

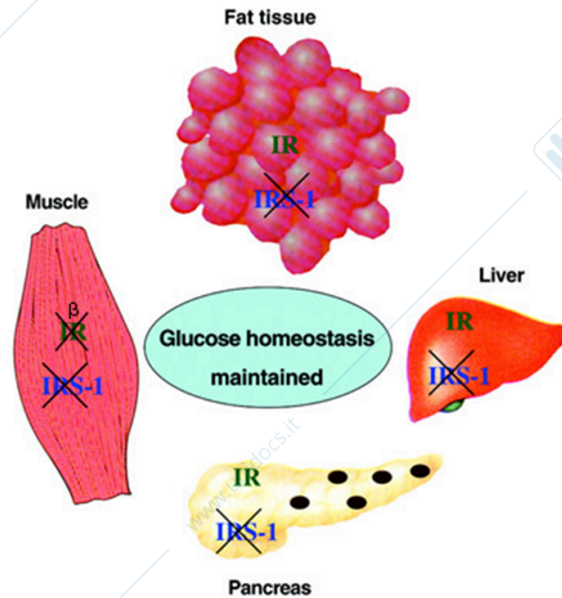
	Resistenz a all'insulin	Resistenz a all'insulin	Iperplasia delle cellule β	Diabete
Infrarossi^{+/-} IRS1^{+/-} Infrarossi^{+/-} IRS2^{+/-}	a nel muscolo	a nel fegato	SÌ	50% adulto
Infrarossi^{+/-} IRS1^{+/-} IRS2^{+/-}	NO	SÌ	limitato	adulto
Infrarossi^{+/-} IRS1^{+/-} IRS2^{+/-}	SÌ	SÌ	SÌ	Presto
IRS1^{-/-} GK^{+/-}	SÌ	SÌ	SÌ	adulto



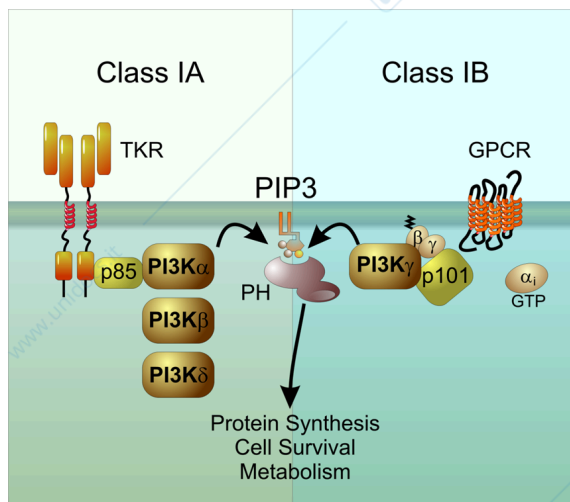
Tre modelli di risposta delle cellule β pancreatiche alla resistenza all'insulina. (a) Le cellule β (rosse) proliferano per compensare le ridotte risposte all'insulina. (b) Si verifica una simile iperplasia compensatoria delle cellule β , ma gli animali sviluppano diabete di tipo 2 perché le loro cellule β (viola) sono difettose nella secrezione di insulina stimolata dal glucosio. (c) Questi animali hanno cellule β funzionali (rosse) che non sono in grado di subire iperplasia per compensare la resistenza all'insulina.

Lezione 1,

L'omeostasi del glucosio è mantenuta in **MIRKO** e **IRS-1^{-/-}** topi a causa di cambiamenti compensatori nei singoli organi. Nell'**IRS-1^{-/-}** topi, β -l'iperplasia delle cellule porta ad un aumento della secrezione di insulina

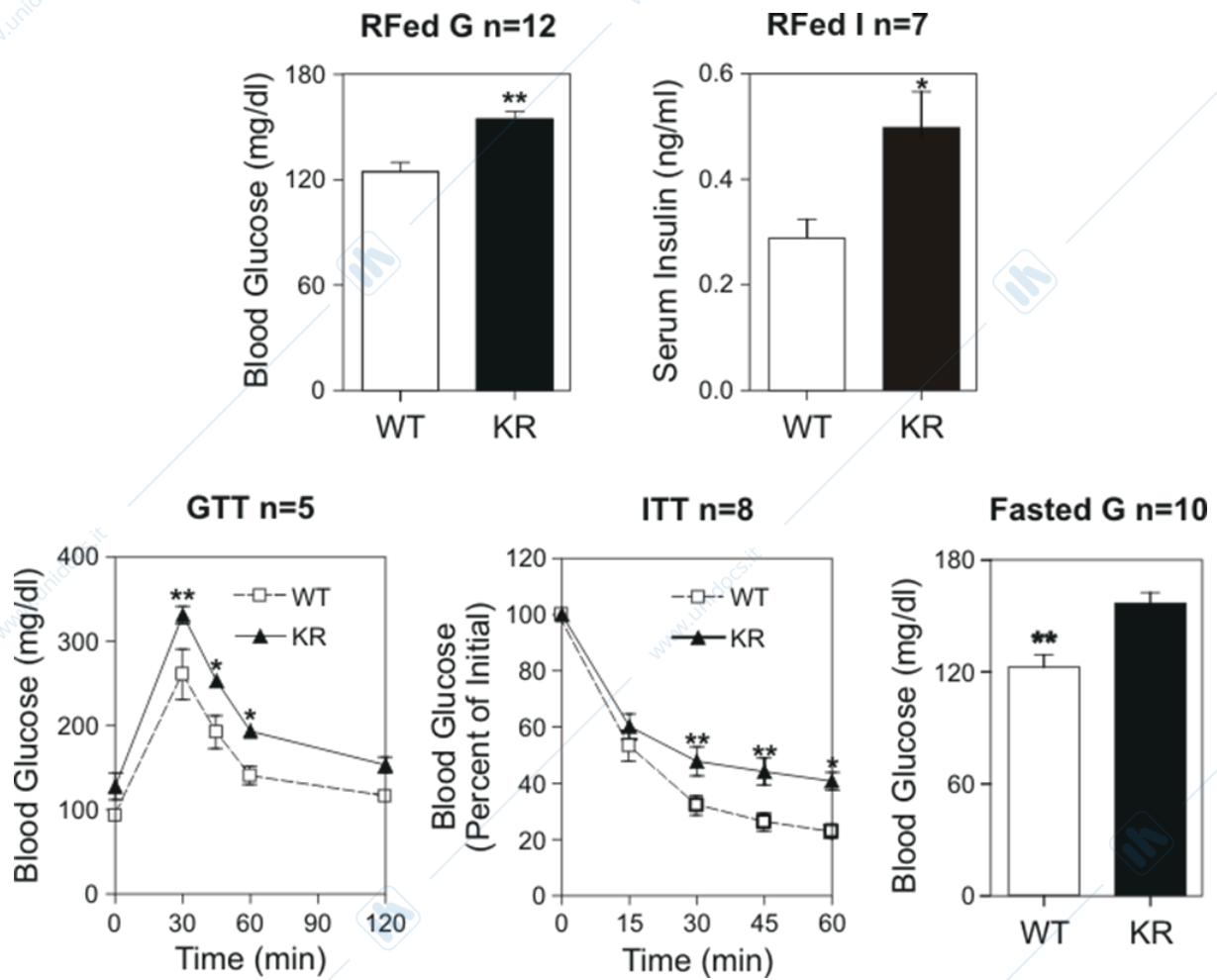


PI3K di classe 1



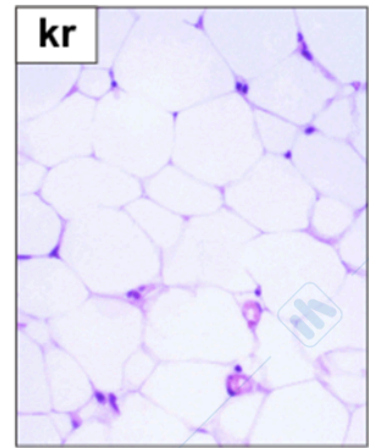
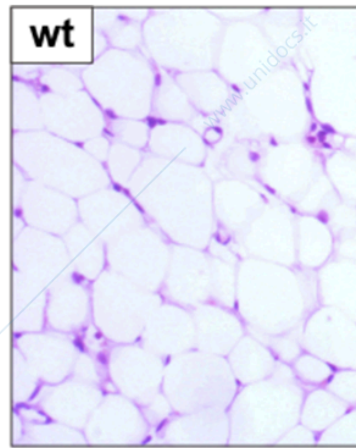
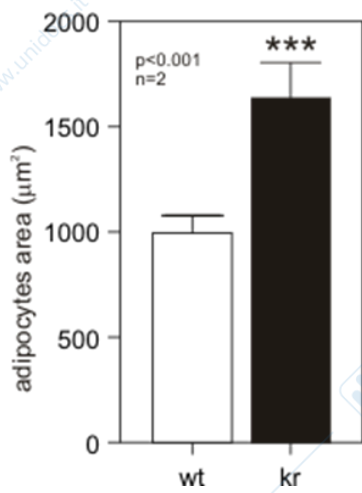
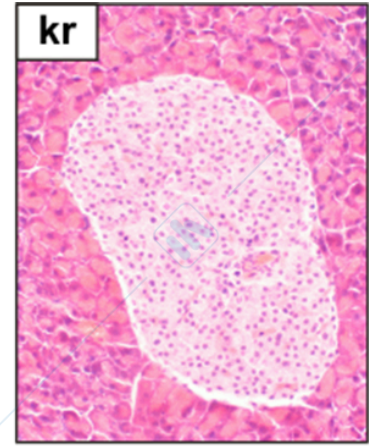
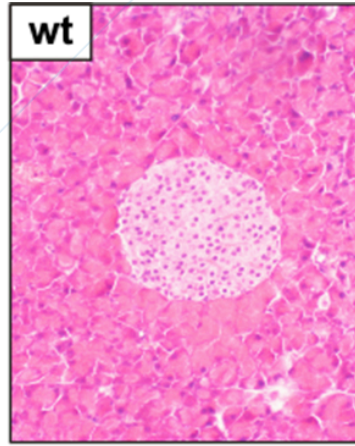
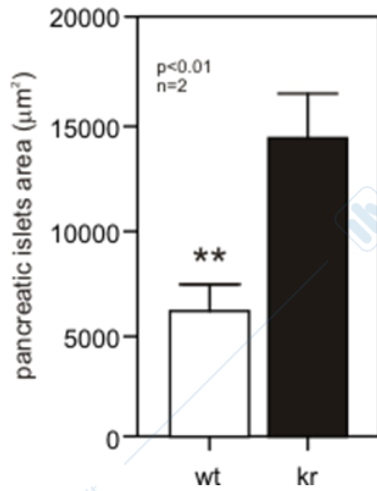
I topi KR/KR di sei mesi mostrano resistenza all'insulina e iperglicemia

Lezione 1,



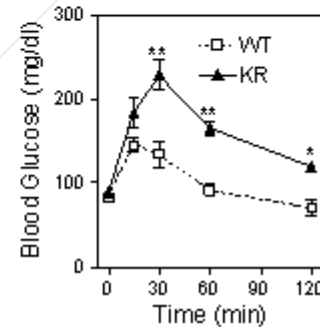
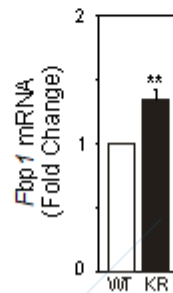
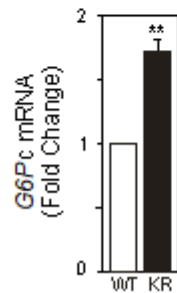
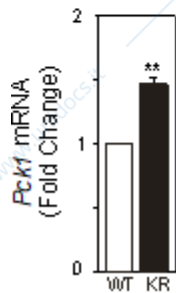
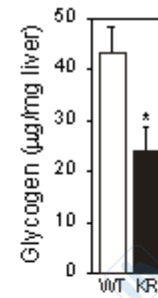
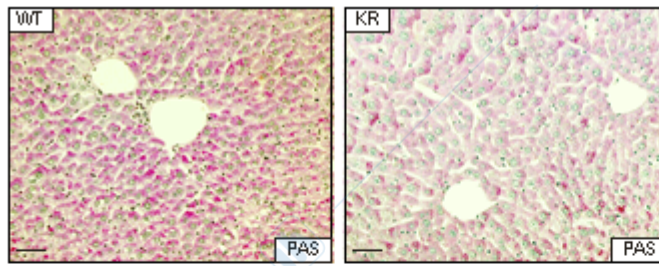
Lezione 1,

I topi KR/KR presentano isole pancreatiche e adipociti ingrossati



I topi KR/KR presentano problemi al fegato

Lezione 1,



Modelli di topi con azione insulinica compromessa

Topi knockout privi di GLUT4 (Natura 1995, 377, 151–155)

Sono:

- ritardo della crescita, con massa grassa notevolmente ridotta, cardiomegalia, e durata della vita ridotta
- nessun diabete

almeno il 50% dei topi eterozigoti GLUT4-null ha sviluppato il diabete entro i 6 mesi di età

Modelli di topi con compromesso insulina a valle effettori

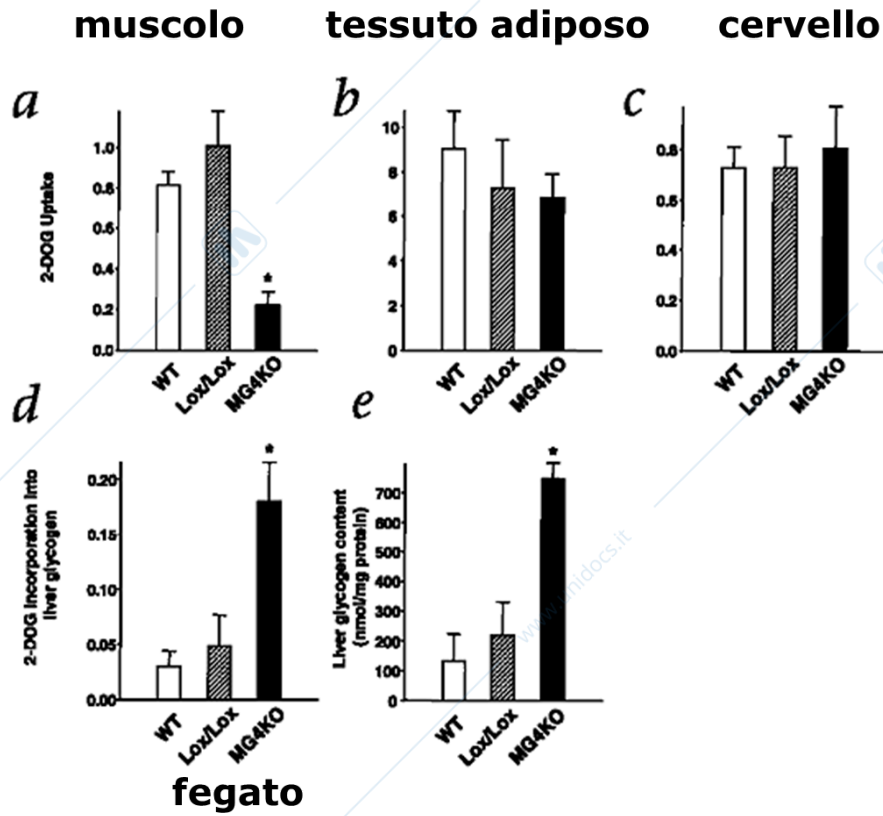
Topi GLUT4 KO specifici per i muscoli (Natura

Med.2000, 6, 924–928) ha mostrato:

- il trasporto del glucosio basale, stimolato dall'insulina e stimolato dalla contrazione sono notevolmente ridotti
- iperglicemia, intolleranza al glucosio e resistenza all'insulina

Un sottinsieme di topi ha una schiettezza diabete con grave resistenza all'insulina.

Lezione 1,

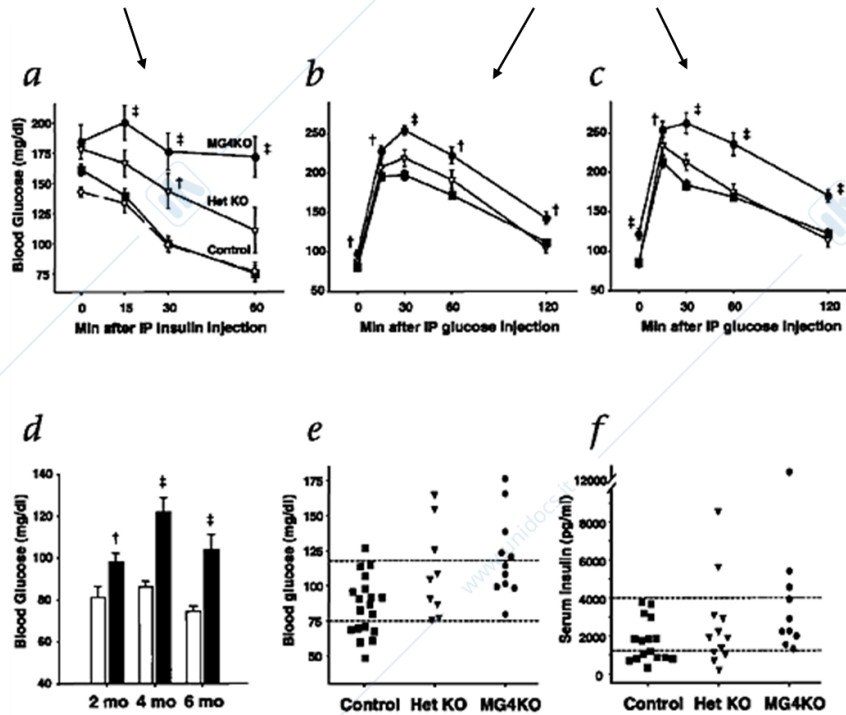


Glucosio l'assorbimento è ridotto nel muscolo ma è aumentato nel fegato nei topi muscolo-G4KO *in vivo*.

Lezione 1,

resistenza all'insulina

intolleranza al glucosio



Muscolo-G4KOi topi (MG4KO) mostrano resistenza all'insulina e intolleranza al glucosio

Table 1 Fasting concentrations of triglycerides, free fatty acids, lactate and b-hydroxybutyrate in control, Het KO and muscle-G4KO mice at 4 months of age

	Control	Females Het KO	MG4KO	Control	Males Het KO	MG4KO
Triglycerides (mg/dl)	105.1 ± 7	102.3 ± 12	86 ± 9	127.2 ± 11	95.1 ± 11	78.4 ± 12
Free Fatty Acids (μEq/l)	760 ± 32	790 ± 40	810 ± 67	760 ± 34	680 ± 54	740 ± 71
Lactate (mg/dl)	31.1 ± 2	38.7 ± 7	35.7 ± 4	37.6 ± 3	37.7 ± 5	23.2 ± 3*
β-hydroxybutyrate (mg/dl)	13.5 ± 0.7	11.9 ± 1.3	6.1 ± 0.4†	10.9 ± 0.9	7.7 ± 1.1*	4.7 ± 0.6†

Data represent means ± s.e.m. *, P < 0.05 and, † P < 0.001, compared with control (two-tailed, unpaired Student's t-test). MG4KO, muscle G4Ko.

Nessuna dislipidemia

Modelli di topi con azione insulinica compromessa

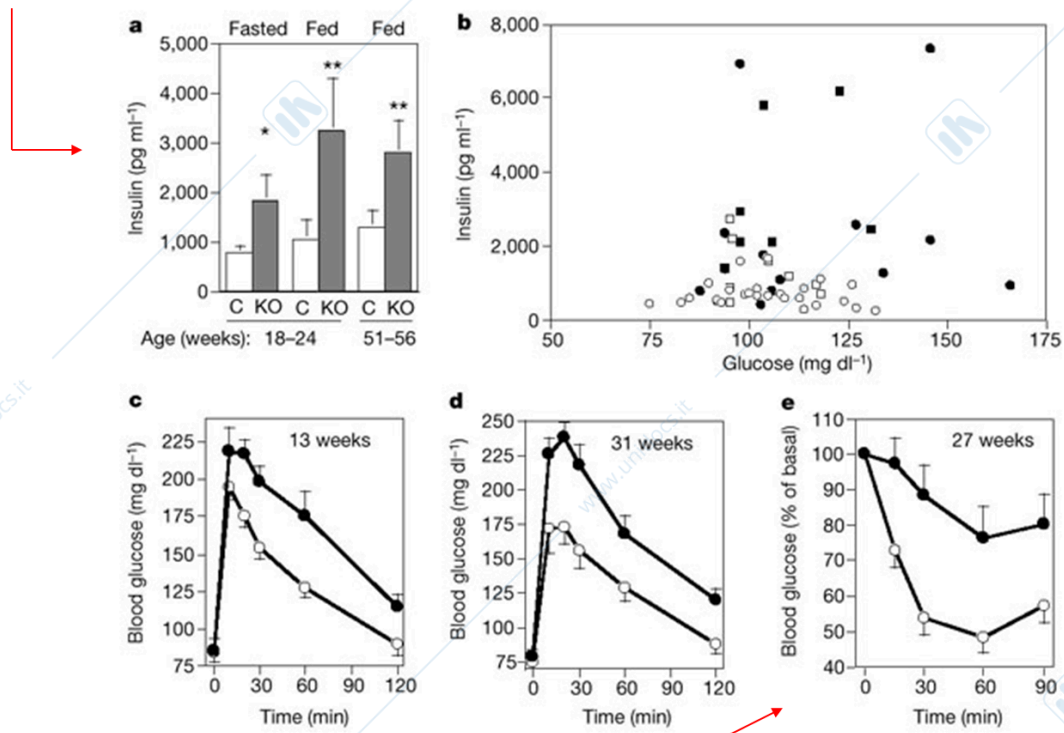
Topi GLUT4 specifici degli adipociti (Natura 2001, 409, 729–733) ha mostrato:

- crescita normale e massa adiposa nonostante l'assorbimento del glucosio stimolato dall'insulina negli adipociti notevolmente compromesso
- resistenza all'insulina nei muscoli e nel fegato

Lezione 1,

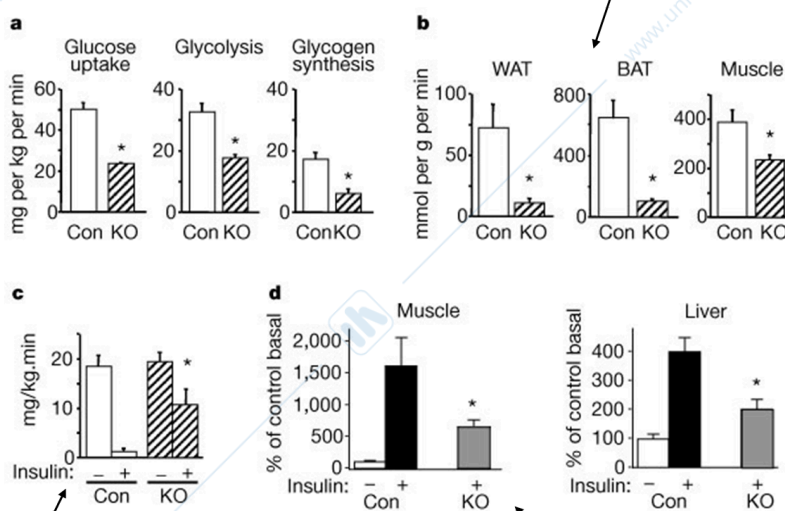
- intolleranza al glucosio e iperinsulinemia
- un sottosieme di questi topi sviluppa un'estrema resistenza all'insulina e diabete

iperinsulinemia



Intolleranza al glucosio e resistenza all'insulina nel tessuto adiposo GLUT4-deficiente (G4A^{-/-}) topi

trasporto del glucosio stimolato dall'insulina

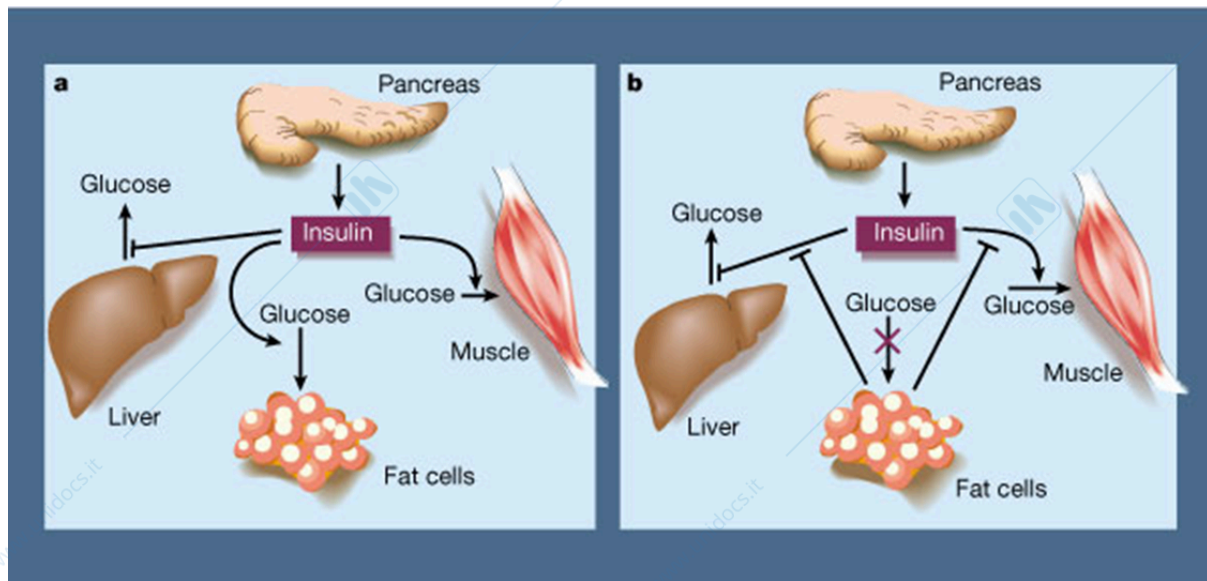


produzione epatica di glucosio

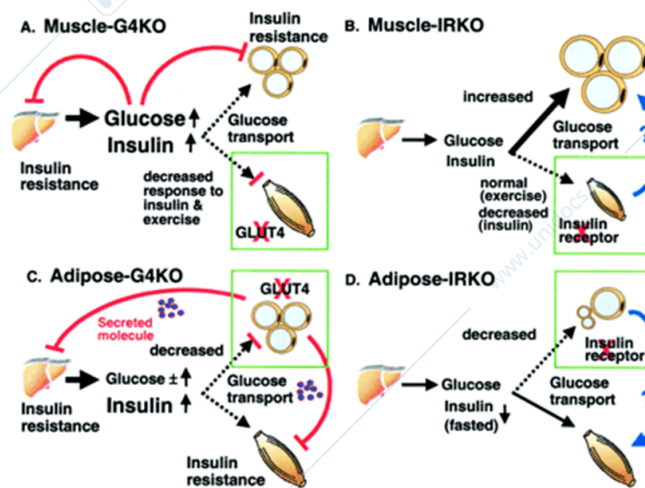
Attività PI3K

In vivo metabolismo del glucosio e attività PI(3)K

Lezione 1,



Comunicazione tra grasso, muscolo e fegato



Modifiche nell'omeostasi del glucosio e nell'adiposità con l'ablazione specifica del GLUT4 o dell'IR nei muscoli o negli adipociti.